THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Institut National Polytechnique de Toulouse

Présentée et soutenue par

Camille PIERRE

Le 30 octobre 2018

Elaboration, caractérisation et étude des propriétés de revêtements bioactifs à la surface d'implants dentaires

Ecole doctorale : **SDM - SCIENCES DE LA MATIERE - Toulouse**
Spécialité : **Sciences et Génie des Matériaux**

Unité de recherche :
CIRIMAT - Centre Interuniversitaire de Recherche et d'Ingénierie des Matériaux

Thèse dirigée par
Christèle COMBES et Ghislaine BERTRAND

Jury

Monsieur Hicham BENHAYOUNE, Pr, *Université de Reims Champagne-Ardenne*	Rapporteur
Madame Chantal DAMIA, MCF, *Université de Limoges*	Rapporteur
Madame Beatrice BISCANS, DR, *CNRS*	Examinateur
Madame Martine BONNAURE-MALLET, PU-PH, *Université de Rennes 1*	Examinateur
Monsieur Christophe EGLES, Pr, *Université de Technologie de Compiègne*	Examinateur
Monsieur Daniel RODRIGUEZ RIUS, Pr, *Universitat Politècnica de Catalunya*	Examinateur
Madame Ghislaine BERTRAND, Pr, *Toulouse INP*	Co-directeur de thèse
Madame Christèle COMBES, Pr, *Toulouse INP*	Directeur de thèse
Madame Christine ROQUES, PU-PH, *Université Paul Sabatier*	Invité
Monsieur Christian REY, Pr Emerite, *Toulouse INP*	Invité

Remerciements

Ici commence la partie la moins scientifique et certainement la plus compliquée à rédiger de ce manuscrit : mes remerciements à l'ensemble des personnes qui m'ont accompagné durant ces trois années d'aventures, scientifiques et humaines, extraordinaires !

Je tiens tout d'abord à remercier les personnes ayant accepté de juger mon travail et d'y avoir apporté leurs retours :

Chantal Damia, maitre de conférences à l'Université de Limoges,
Et *Hicham Benhayoune*, professeur à l'Université de Reims Champagne-Ardenne,
Merci à vous deux d'avoir accepté de rapporter ce manuscrit et de m'avoir permis son amélioration grâce à vos remarques plus que pertinentes.

Christophe Egles, professeur à l'Université de Technologie de Compiègne, vous m'avez fait l'honneur de présider ce jury de thèse en ce moment important dont je garde de très bons souvenirs.

Beatrice Biscans, Directrice de recherche CNRS, une approche procédé et cristallisation dont je suis loin d'être spécialiste et qui a alors mené à des discussions intéressantes. Merci pour vos retours sur le projet.

Martine Bonnaure-Mallet, professeur des universités-praticien hospitalier à l'Université de Rennes 1, vous avez apporté votre regard praticien sur ces travaux et merci d'y avoir apporté cette dimension biologique.

Daniel Rodriguez Rius, professeur à l'Universitat Politècnica de Catalunya. Après une collaboration de quelques mois grâce au séjour d'Elia dans notre laboratoire, vous avez accepté de participer à mon jury de thèse et je vous en remercie.

Bien avant ce dernier moment qui est la soutenance, il y a eu 3 ans… Je pense que je n'arriverais jamais à exprimer à quelle point ces années au sein du laboratoire CIRIMAT et de l'équipe Pharmacotechnie Phosphates Biomatériaux ont été intenses, riches en rebondissement et tellement merveilleuses.

Commençons ici par mes deux directrices de thèse :

Christèle Combes, une boule d'énergie que ce soit au niveau du pas ou de la voix, tous deux si simples à repérer de loin et qui s'est avéré tellement pratique pour t'attraper au vol devant notre bureau. Un emploi du temps surchargé mais tu trouves toujours le temps pour discuter science ou autre. Remplie d'énergie et quelque peu accro au sucre, nous avions déjà tellement en commun ! A ces points communs s'ajoute maintenant le nombre incalculable de correction que nous pouvons faire… De toi je tiens une des meilleures descriptions de ma personne : « sympathique mais parfois incisif ».

Ghislaine Bertrand, ton second degré peut être au premier abord un peu piquant mais nous nous sommes plutôt bien trouvés sur ce point. Merci pour ces discussions scientifiques ou non scientifiques lors des repas de midi, ou des pauses café ou même tard le soir dans ton bureau avant de nous faire réprimander car le labo fermait et nous n'avions pas vu l'heure. Ces moments ont vraiment été très importants pour moi durant ces 3 années. Si Christèle m'a donné sa « folie des corrections », j'ai appris de toi une façon de penser, de prendre du recul et d'organiser mes idées.

Je pense que je n'aurais pas pu trouver meilleures encadrantes pour moi. Vous êtes tellement complémentaires et toutes deux si bienveillantes. Merci pour la confiance que vous m'avez accordé durant ces 3 ans, pour l'autonomie que vous m'avez laissé, pour avoir supporté toutes mes questions, pour m'avoir challengé et/ou supporté quand il le fallait ; j'ai tellement appris à vos côtés. Et que vous le sachiez, j'aurais aimé y rester !

Ce projet de thèse pluridisciplinaire inclut de nombreux partenaires qui ont chacun apporté leurs connaissances afin d'enrichir ces travaux.

Je souhaiterais dans un premier temps remercier le partenaire industriel pour m'avoir permis de visiter leur site de fabrication, de réaliser des essais chez eux et surtout de m'avoir fourni les échantillons nécessaires pour ces travaux de thèse. Merci à Olivier et Didier pour leur expertise d'un point de vue praticien et industriel et d'avoir nourri les réunions autour de ce projet. Un grand merci à Sébastien et Marie pour les demandes de nombreux échantillons, ayant des géométries et des traitements de surface parfois exotiques, qui ont tout mis en œuvre afin de les réaliser.

Ensuite viennent les microbiologistes du LGC et notamment *Christine Roques* et *Iltaf Pavy*. Merci d'avoir pris le temps d'expliquer tellement de choses à un non initié comme moi… Merci *Christine* pour ces bons moments de rigolade passés en conférence ou en réunion ; j'ai travaillé avec toi avec un grand plaisir et je ne comprendrais jamais comment tu fais pour faire autant de choses à la fois ! *Iltaf*, merci d'avoir eu la patience de me former aux manips, de les avoir réalisées pour moi la plupart du temps et garde cette énergie et cette bonne humeur qui te vont si bien.

Je souhaiterais également remercier *Agathe Juppeau,* également du LGC mais côté ENSIACET, qui a tout organisé pour que je puisse maniper du mieux possible dans leur labo.

Un moment magique de cette thèse a été le séjour de quelques mois au Vietnam au sein de l'équipe de l'ITT à Hanoï. Je tiens à remercier toutes les personnes que j'ai rencontré là bas pour leur aide au laboratoire mais également pour m'avoir fait découvrir leur mode de vie, leur culture et d'avoir été si accueillant. Je remercie particulièrement *Thanh, Nam, Thom* et *Hanh*.

Je tiens à remercier les étudiants que j'ai eu la chance d'encadrer que ce soit pour des stages ou bien des projets au sein de l'école. En espérant ne pas trop vous avoir traumatisé, merci à *Anais Domergue, Clementine Beutier, Elise Ode, Francis Bellier, Guillaume Godefroy, Heloise Willeman, Lauriane Tisserand, Lisa Feuillerat, Mai Vuong, Margot Bonmatin, Marc Debliqui, Mathilde Le Prat, Mathilde Champeau et Samuel Périn.*

Un grand merci à la région Occitanie ainsi qu'au partenaire industriel d'avoir financé ces travaux de thèse.

Au laboratoire, j'ai eu la chance de travailler avec les 3 équipes du CIRIMAT présente sur le site de l'ENSIACET.

Je tiens tout d'abord à envoyer un remerciement tout spécial à nos secrétaires adorées qui nous chouchoutent et avec qui on rigole beaucoup, j'ai nommé *Domi, Caroline* et Katia.

Les MEMO lors des études métallographiques des substrats. Je remercie tous les membres de cette équipe qui m'ont formé et aidé avec un remerciement tout spécial pour *Alexandre Frelon*. Un grand merci aux doctorants, les Memodocs, avec qui nous avons passés de bons moments à parler de science et autre. Et oui j'arrivais (presque) à vous comprendre !

Les SURF qui m'ont accueilli pour réaliser les manips d'électrodéposition. Merci à *Nadine Pébère* d'avoir mis à disposition le matériel nécessaire. Merci aux autres membres de l'équipe qui m'ont formé sur les machines et bien sur aux doctorants pour m'avoir apporté aide et divertissement.

Les PPB, équipe d'origine, merci à tous pour cette ambiance merveilleuse au labo et en dehors ! Outre mes directrices de thèse j'ai été très bien entouré pendant ces 3 années de thèse.

Merci à *Cédric Charvillat* et *Olivier Marsan* pour leur aide et surtout leurs discussions.

Merci à *Carole Thouron et Françoise Bosc* pour leur aide quotidienne au sein du laboratoire et leur bonne humeur. Un remerciement tout spécial à Françoise pour les heures passées avec la machine d'absorption atomique plus que capricieuse…

Merci à *Christophe Drouet*, chef d'équipe, pour ces taquineries et ces interventions dans le bureau afin de venir grignoter quelques douceurs et discuter un moment avec nous.

Je tiens à adresser un remerciement tout spécial à *Christian Rey*, grand spécialiste des phosphates de calcium. Merci pour ces discussions scientifiques ou non lors des réunions ou simplement autour d'un repas. Merci d'avoir pris le temps de m'initier à la chimie des phosphates de calcium, tellement méconnue à mes débuts.

Un grand merci à *David Grossin* et *Jérémy Soulié* avec qui j'ai passé de nombreuses heures de TP formidables ! J'ai eu énormément de chance d'enseigner aux côtés de personnes passionnées comme vous et avec tant de bonne humeur à revendre.

Je souhaite également remercier tous les membres de l'équipe PPB qui n'était pas à l'ENSIACET et donc avec qui je n'ai pas eu la chance de beaucoup travailler.

Rien n'aurait été pareil sans les doctorants PPB et particulièrement ceux du bureau 1-r1-1 ou alors ceux qui y passaient pas mal de leur temps…

Dans les premiers temps, j'ai eu la chance de côtoyer *Manue* et *Fred* même si cela a été pour un temps assez court.

Un énorme merci à *Maëla*, seule doctorante présente lors de mon arrivée et qui m'a accueilli au sein du bureau et avec qui nous avons passé de très bons moments.

Sylvain, en vadrouille entre l'ENSIACET et la faculté de pharmacie, est un personnage atypique qui m'a donné du fil à retordre afin de pouvoir tirer ne serait-ce qu'un mot de sa bouche. Mais je pense qu'après 3 ans, nous avons réussi à nous apprivoiser et à partager pas mal de chose. Je resterai admiratif de ton amour pour les caractérisations fines et la chimie presque fondamental.

Loïc, qui a commencé sa thèse en même temps que moi mais qui n'était malheureusement que très rarement à l'ENSIACET où un bureau fictif l'attendait. Merci à toi pour le soutien dans les moments finaux de la rédaction (plus particulièrement au mois d'Aout) et de la soutenance et pour les pauses café et blabla en tout genre pour débriefer de nos thèses et autre.

L'équipe a été grandement repeuplée lors de l'arrivée de *Clémentine*, *Laetitia* et *Marine.*

Clémentine, personnage dors et déjà connu de l'INSA mais pas vraiment côtoyé. Ces deux années passées ensemble m'ont permis de découvrir en toi une fille formidable, pleine de bonne humeur avec qui j'ai passé de merveilleux moments. Un grand merci pour les nombreux messages de soutien et d'amour en fin de thèse. Continue à t'investir comme tu le fais car tu sais où tu vas !

Laetitia, « L A E dans l'A T I T I A » alias Letiti. Malgré mes pics incessants et le fait que je sois le pire collègue du monde, nous avons passé de très bons moments au labo et en dehors. Merci pour les mots d'encouragement à toutes les deadlines et merci de m'avoir nourri de chocolat lorsque c'était la crise dans ma réserve… En pleine évolution, aie confiance et keep going !

Marinette, une demoiselle étonnante par ses multiples facettes. Malgré son âge avancé elle reste pleine de motivation et de détermination que ce soit dans le travail ou pour aller en afterwork déguster une petite bière. Merci pour nos fous rires, pour nos moments musiques au bureau ou au piano. Restes simplement comme tu es avec ton franc parlé et ta bonne humeur.

A toutes les trois, je vous souhaite bon courage pour cette dernière ligne droite mais soyez assuré de mon soutien et ma toute confiance en vous !

Ambra, pas doctorante mais tout comme. Tu étais stagiaire et vu que t'étais trop forte, trop marrante et trop de bonne humeur on a voulu te garder ! Le plus énervant chez toi, c'est que tu parles beaucoup trop de langue et on en est tous jaloux. Bon ok hormis « la prochaine semaine » mais on y est finalement arrivé. Merci d'être toujours motivée pour tout et tout le temps ; on peut toujours compter sur toi. Bon courage pour ta thèse qui commence mais je ne me fais absolument aucun soucis !

Maximilien, le petit bébou de l'équipe. Et oui pour moi tu resteras le dernier arrivé, le ptit loulou, le ptit b***** mais de qui on a essayé de prendre soin quand même. Disons que je me suis retrouvé un peu en toi, même si nous sommes tout de même différents. Merci d'avoir supporté mes railleries durant cette année. Je ne pense pas trop t'avoir traumatisé et j'espère t'avoir prodigué quelques conseils pour avancer sereinement dans ta thèse jeune padawan.

Un énorme merci à cette team de choc pour les nombreux moments passés ensemble autour d'une bière ou autre, physiquement ou par skype. Beaucoup trop d'amour entre nous !

Je tiens également à remercier les permanents et doctorants côté pharma : Audrey, Christelle, Fabien, Sandrine, Sophie et Sophie, Guillaume, Maelys, Thibault et Clémence.

Pour finir, j'aimerais remercier les élus doctorants que j'ai eu la chance de rencontrer à la commission rechercher de l'INPT et avec qui j'ai eu l'occasion de passer des moments, sérieux ou non, notamment lors des réunion/apéros. Un remerciement tout spécial à Loïc pour les pauses Coca durant la rédaction et par la suite.

Ces 3 années aurait été très différentes sans le soutien de ma famille et de mes amis.

Merci à mes amis les plus vieux et notamment *Débo* qui me supporte depuis tant d'années.

Je tiens à remercier le crew du lycée, malgré le fait que l'on se voit rarement c'est toujours pareil. J'ai nommé : *Audrey*, *Benoit, Hugo, Jo'*, *Lu*, *Mika*, *Riton* et *Charlou* qui m'a également accueilli lors des premiers mois à Toulouse.

Grâce à eux j'ai donné la moitié de mes payes à la SNCF mais cela en valait toujours la peine. Merci aux amis de l'INSA que ce soit les G18 ou la team SGM ou les autres. Je ne vais pas tous les citer mais ils se reconnaitront. Merci pour vos moqueries et vos encouragements ! Merci pour tous les merveilleux moments passés ensemble.

Depuis mon arrivée à Toulouse, j'ai eu la chance de renouer grandement avec *Charlou*, ami de longue date et de faire connaissance avec sa femme *Hélène*. J'ai eu la chance de passer 6 mois en colocation avec cette dernière et cela nous a permis de nous découvrir, de partager des fous rires et de manger quelques kilos de chocolat. Merci à vous deux pour tout ce que vous m'apportez, vous êtes juste géniaux et je sais que je pourrais toujours compter sur vous.

Viennent après cela la grande famille des Funtaines : colocation exceptionnelle ressemblant tout de même à un village vacance. Certes la rédaction n'a pas été de tout repos avec vous car il a fallu trouver la motivation de refuser les multiples invitations à sortir ou à se faire dorer sur la terrasse mais vous m'avez permis de me changer les idées et d'être plus productif par la suite (je crois…). Merci à tous, nouveaux et anciens, pour les moments passés en week-end à la plage, à la montagne ou tout simplement aux fontaines à Toulouse ; on peut dire que l'on ne s'ennuie jamais ensemble. Un remerciement tout spécial aux BB loulous incluant *Juju* et *Léa* pour ces moments privilégiés et surtout à *Juju* pour avoir vécu avec moi en période de rédaction et de préparation de soutenance. Une pensée pour *Thotho* qui, malgré la distance, m'a toujours encouragé dans les moments moins évidents et a supporté mes plaintes.

Bien sur je finirai par remercier l'ensemble de ma famille qui n'a pas forcément compris ce que je faisais mais qui a toujours été présente. Tout d'abord merci à mes parents, *Nanou* et *Jojo*, sans qui je ne serais pas là où j'en suis aujourd'hui. Merci à eux de m'avoir donné la chance de pouvoir étudier et de toujours m'avoir laissé libre dans mes choix de vie. Ensuite mon frère *Flo*, l'artiste, qui trouve que la science peut quand même être cool et intéressante. Un énorme merci à mes grands parents avec qui je prends toujours autant de plaisir à discuter de tout et de rien et qui n'ont jamais douté de moi. Une spéciale dédicace à *Jojo*, *Nanou*, *Flo*, *Elise*, *Eliane* et *Michel* d'avoir été présent le jour J de la soutenance ainsi que pour leur aide lors de la préparation.

Et je n'oublie pas tous ceux qui aurait pu se perdre dans ma mémoire mais qui reste dans mon cœur. Ce fut 3 années d'expériences très riches tant scientifiquement qu'humainement !

A ma famille, à mes amis

Table des matières

Introduction générale

Après la perte d'une ou plusieurs dents suite à un traumatisme ou à une pathologie osseuse ou dentaire, ou encore simplement au vieillissement, le patient souhaite recouvrir sa denture pour plusieurs raisons. En effet, celle-ci permet au patient de retrouver ses fonctions masticatoires, et donc la capacité de se nourrir. Outre cela, l'élocution ainsi que l'esthétisme sont également des fonctions associées à la denture. Le remplacement dentaire vise donc à restaurer le bien être psychologique, physique mais aussi social du patient.

Les prothèses dentaires implanto-portées représentent une bonne solution pour le remplacement d'une ou plusieurs dents. En effet, les autres solutions proposées comme les prothèses amovibles ou les ponts ont l'inconvénient majeur de ne pas transmettre les forces masticatoires au tissu osseux de la mâchoire menant à sa résorption à long terme. De plus, les prothèses amovibles ne sont ni confortables ni pratiques pour le patient et la pose d'un pont nécessite la détérioration des deux dents saines adjacentes. Les prothèses implanto-portées se composent de trois éléments principaux : l'implant dentaire constituant une racine artificielle, l'élément prothétique permettant de remplacer la ou les dents manquantes et le pilier faisant le lien entre ces deux derniers constituants. Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous intéresserons uniquement à l'implant dentaire. En effet, la pose de ce dernier au sein de la mâchoire est un acte chirurgical associé à deux principales problématiques. La première concerne la période de cicatrisation osseuse, variant de 3 à 6 mois, nécessaire avant la mise en place de la couronne définitive permettant ainsi de rétablir pleinement la fonction de la dent. La deuxième est due au risque d'infections post-opératoires pouvant conduire à des complications, voir même à l'échec de l'implantation dans certains cas, en engendrant alors un nouvel acte chirurgical pour remplacer l'implant et des frais supplémentaires pour le système de santé et le patient ainsi que de l'anxiété et des douleurs supplémentaires pour ce dernier.

Par conséquent, des études ont été menées afin d'améliorer l'ostéointégration des implants dentaires. Cette caractéristique est directement liée aux propriétés de la surface de l'implant qui est en contact direct avec le tissu osseux. Il a été démontré que la rugosité et la mouillabilité de la surface de l'implant sont deux caractéristiques importantes pour l'ostéointégration. Des traitements de surface tels que le sablage, l'anodisation, ont alors été développés et sont proposés industriellement depuis les années 1980 afin d'obtenir une rugosité moyenne arithmétique comprise entre 1 et 2 µm, considérée comme optimale, ainsi qu'une mouillabilité de surface élevée. Une autre

solution envisagée pour améliorer l'ostéointégration des implants en titane est la mise en place d'un revêtement de phosphate de calcium. En effet, une fois implanté, le revêtement peut se dissoudre, entraînant une augmentation locale de la sursaturation des liquides biologiques par rapport aux phosphates de calcium, pouvant ainsi favoriser la néoformation osseuse et donc la cicatrisation osseuse et plus largement l'ostéointegration de l'implant. Pour produire ce revêtement, plusieurs procédés ont déjà été proposés et notamment la projection plasma, le dépôt électrophorétique, le dépôt par laser pulsé, le procédé d'immersions etc. Parmi ceux-ci, les procédés d'immersions et d'électrodéposition présentent l'avantage de pouvoir recouvrir des formes complexes comme les implants dentaires. Ils sont également versatiles et simples d'utilisation. En effet, les basses températures et les solutions aqueuses mises en œuvre dans ces procédés permettent d'obtenir des phases de phosphates de calcium réactives. Il est également possible d'associer des molécules thermosensibles au revêtement ou d'y intégrer un ion antibactérien pour permettre de limiter les infections post-opératoires.

L'objectif principal de ces travaux de thèse est donc de s'intéresser à la préparation de surface des implants dentaires en titane avant de développer un revêtement bioactif et antibactérien à la surface de ces mêmes implants. Pour cela, un protocole de traitement de surface favorisant la mise en place des revêtements a été développé dans un premier temps. Puis, deux procédés de revêtement à basse température ont été étudiés, à savoir la technique par immersions successives et l'électrodéposition, afin de déposer à la surface de l'implant en titane une couche mince de phosphate de calcium, de structure et de composition analogue au minéral osseux en vue de favoriser l'ostéointégration. Ensuite, les revêtements ont été dopés avec des ions argent, cuivre ou zinc afin de leur conférer des propriétés antibactériennes. L'ensemble du projet a été conduit dans le but d'un transfert industriel et donc à partir d'un cahier des charges. Les expériences ont alors été menées et développées dans cette optique considérant les contraintes industrielles que peuvent être notamment le coût et le temps de production.

Ces travaux de thèse s'inscrivent dans le cadre du projet BIOACTISURF n°14054394, soutenu par la Région Midi-Pyrénées devenue depuis la région Occitanie, et regroupant plusieurs partenaires :

1. Le Laboratoire CIRIMAT qui a en charge l'élaboration, la caractérisation et le dopage des revêtements de phosphate de calcium ainsi que l'étude de leurs propriétés physico-chimiques.

2. Le Laboratoire de Génie Chimique (LGC) qui réalise l'évaluation des propriétés biologiques *in vitro* des matériaux élaborés et en particulier de leurs propriétés antibactériennes.
3. Un partenaire industriel qui réalise les substrats en titane et définit les spécifications du produit.

Le premier chapitre de ce mémoire définit le rôle de l'implant dentaire et le cahier des charges qui lui est attribué avant de présenter des généralités sur le tissu osseux ainsi que ses mécanismes de remodelage et de cicatrisation. Les propriétés de surface des implants influençant l'ostéointégration de ce dernier sont ensuite précisées et les traitements de surface développés sont présentés. Enfin, les procédés de revêtements mis en œuvre dans cette étude sont décrits ainsi que des généralités sur les phosphates de calcium avant de traiter de l'ajout d'agents antibactériens aux implants. Ce premier chapitre permet d'établir un état de l'art sur l'ensemble des thématiques traitées au cours de ces travaux de thèse et de préciser le contexte de l'étude. Les objectifs du travail ainsi que les stratégies associées sont finalement explicités.

Dans un deuxième chapitre, l'état de surface actuellement proposé par le partenaire industriel est décrit ainsi que les modifications apportées par chaque étape du traitement de surface. Par la suite, des pistes d'amélioration de cette surface visant à mettre en place un revêtement par voie aqueuse sont décrites.

Les deux procédés étudiés dans ce travail de thèse sont celui d'immersions successives et d'électrodéposition. Les paramètres des procédés ont été optimisés dans le but d'obtenir un revêtement de phosphate de calcium répondant au cahier des charges préalablement défini et les propriétés physico-chimiques de celui-ci ont été investiguées. Ces études font l'objet des troisième et quatrième chapitres.

Enfin, le dopage de ces revêtements a été réalisé par les ions argent, cuivre ou zinc. L'effet de l'ajout de ces éléments au revêtement a été étudié et est présenté dans le cinquième et dernier chapitre. Les résultats préliminaires des études microbiologiques menées afin d'évaluer les propriétés antibactériennes des revêtements y sont également décrits.

Les techniques de caractérisations mises en œuvre tout au long de ce travail sont détaillées dans l'annexe A.

Chapitre I

Etat de l’art

Ce premier chapitre décrit tout d'abord les prothèses implanto-portées et plus particulièrement l'implant dentaire qui est l'objet de ce travail de thèse. Nous nous intéresserons ensuite au tissu osseux de la mâchoire et à l'intégration de l'implant au sein de celui-ci avant d'aborder les caractéristiques physiques et chimiques requises pour la favoriser. Par la suite les différentes stratégies actuellement développées permettant d'améliorer l'ostéointégration et de limiter les infections post-opératoires seront présentées. Pour finir nous positionnerons ces travaux de thèse par rapport à cet état de l'art.

I-1. L'implant dentaire

Différentes problématiques telles que le vieillissement de la population, les maladies osseuses ou encore des traumastismes conduisent à un besoin de remplacement d'une ou plusieurs dents. Les prothèses implanto-portées constituent une solution intéressante dans ces derniers cas. Elles permettent en effet la restauration des fonctions de la denture et contribuent ainsi à maintenir la densité osseuse et la forme de la mâchoire. Elles permettent aussi de redonner la capacité de manger et de parler au patient ainsi que l'esthétisme associé. Toutes ces fonctions améliorent donc le bien-être psychologique, social et physique du patient. L'implant dentaire, étudié dans ce travail de thèse, sera d'abord décrit pour ensuite mettre en évidence le cahier des charges fonctionnel de ce type de dispositif médical. Les matériaux utilisés actuellement pour sa fabrication sont enfin présentés avec leurs caractéristiques propres et leurs propriétés.

I-1-1 Les prothèses implanto-portées et l'implant dentaire

Les prothèses implanto-portées permettent de remplacer une ou plusieurs dents. Grâce à leur stabilité, elles apportent un certain confort au patient par rapport à une prothèse amovible et évite la mutilation des dents saines environnantes qui est nécessaire pour la pose d'un pont permettant de relier les deux dents piliers avec une ou plusieurs dents artificielles. De plus, cette restauration dentaire a un aspect naturel et permet surtout de transmettre les forces masticatroires aux os des mâchoires afin de limiter la perte osseuse en sollicitant mécaniquement l'os [1].

Elles sont composées de 3 éléments principaux : l'implant, le pilier et la couronne (Figure I-1).

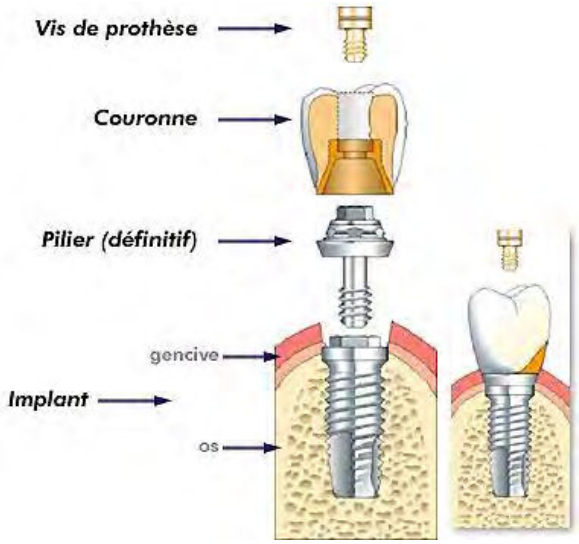


Figure I-1 : Schéma des éléments d'une prothèse implanto-portée [2]

L'implant est un élément cylindro-conique vissé dans le tissu osseux qui est assimilable à une racine artificielle. Son corps est fileté afin d'être convenablement fixé dans l'os. Il en existe de longueur, diamètre, état de surface et forme différents. L'implant est choisi par le praticien en fonction du cas clinique.

Le pilier, quant à lui, fait le lien entre l'implant et la couronne. Il est associé à l'implant par le biais de connexions diverses, les connexions externe hexagonale, interne hexagonale ou cône morse étant principalement utilisées [2], [3]. Cet élément est un facteur déterminant quant à la durée de vie du traitement prothétique [4].

La prothèse au sens large, qui peut être une couronne ou un pont par exemple, est fixée sur le pilier afin de remplacer la ou les dents manquantes. En effet, un implant peut accueillir une couronne dans le cas du remplacement d'une dent (Figure I-2a) ou un pont peut être fixé sur plusieurs implants dans le cas du remplacement de plusieurs dents (Figure I-2b). Les implants peuvent aussi permettre de fixer les prothèses dentaires complètes qui sont instables en bouche chez certains patients grâce à divers systèmes de fixation (Figure I-2c) [5]. Ces prothèses peuvent être cimentées, transvissées ou encore clipsées dans le cas de prothèses amovibles [2].

Figure I-2 : a) Implant vissé dans la mâchoire; b) Pont fixé sur deux implants; c) Prothèse complète supportée par des implants

Sources : http://www.ciedmarseille.com/implant-dentaire-1.html
http://www.vijaydentalhospital.com/isbridge.html
http://www.implant-en-hongrie.fr/remplacer-toutes-les-dents.html

Le travail de thèse a porté uniquement sur l'implant dentaire (Figure I-2a). Celui-ci est composé de trois parties (de haut en bas) : le col, le corps et l'apex (Figure I-3).

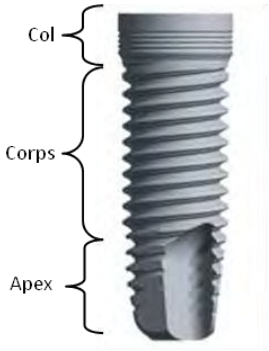


Figure I-3 : Structure d'un implant dentaire

Source : https://www.lefildentaire.com/articles/clinique/implantologie/limplant-dentaire-design-surface-et-connectique/

Le col est la partie de l'implant qui assure la connexion avec le pilier et est donc en contact avec les tissus durs (os) et les tissus mous (gencives). Celui-ci peut-être lisse, comporter des microspires pour diminuer la perte osseuse péri-implantaire [6] ou être recouvert d'une bague en zircone afin d'éviter l'adhésion bactérienne ou dans un but esthétique [7]. Le col peut être droit ou évasé.

Le corps est la partie centrale de l'implant. Les formes peuvent varier : conique, cylindrique, cylindro-conique même si cette dernière est la plus répandue. Les spires permettant l'accroche mécanique de l'implant dans l'os sont usinées le long du corps. De nombreuses études ont été effectuées sur le design des spires (profondeur entre le haut et le bas de la spire, espacement des spires, angulation, double spires…) afin d'améliorer la stabilité mécanique primaire de l'implant et de mieux répartir les forces occlusales dans l'os. Chaque fabricant possède généralement son propre design.

L'apex est la pointe de l'implant qui, lui aussi, permet l'ancrage primaire tout en lui donnant sa propriété anti-rotationnel.

I-1-2 *Le cahier des charges d'un implant*

L'implant dentaire, visant à substituer une racine dentaire, doit avoir des propriétés mécaniques et biologiques adaptées.

Premièrement, l'implant est exposé à des sollicitations mécaniques dues aux forces occlusales (mastication, déglutition,…). Les propriétés mécaniques intrinsèques du matériau le constituant, telles que le module d'Young, la limite élastique, la résistance à la rupture, la résistance à la compression et la résistance en fatigue [8], doivent être adaptées à ces sollicitations mécaniques. La résistance à la corrosion est, elle aussi, prise en compte. Pour ce qui est des forces appliquées à l'implant dentaire, elles varient énormément en fonction du patient. *Brunski* cite pour un adulte des forces axiales variant de 390 à 880 N pour les molaires, de 453 N pour les prémolaires et de 222 N pour les incisives [8]. Une force de cisaillement d'approximativement 20 N est aussi observée. *Gibbs et al.* quant à eux rapportent des forces maximales de 26,7 Kg (environ 262 N) lors de l'occlusion correspondant à 36,2 % de la force maximum qui peut être atteinte chez le patient [9]. L'implant doit également présenter une bonne tenue en fatigue car *Brunski* rapporte une fréquence de mastication comprise entre 60 et 80 mâchements par minute avec un temps de contact entre les dents de 0,2 à 0,3 seconde et un temps de contact total variant de 9 à 17,5 minutes en une journée [8].

Deuxièmement, l'implant doit permettre la transmission des forces occlusales à l'os car si ce dernier n'est plus sollicité mécaniquement il se résorbe. C'est la loi de Wolff : l'os se forme et se résorbe en fonction des contraintes mécaniques qu'il subit. Les expériences à long terme indiquent effectivement qu'un transfert de forces insuffisant de l'implant à l'os adjacent peut engendrer une résorption de ce dernier et éventuellement un descellement de l'implant [10]. Ce phénomène, appelé *« stress shielding »*, a été relié à la différence de rigidité entre l'os naturel et le matériau constituant l'implant. Il est donc important de choisir un matériau ayant un module élastique le plus proche de celui de l'os [11]. A noter que le design de l'implant est lui aussi important dans la transmission des forces occlusales. Les implants dentaires les plus couramment utilisés possèdent une forme de vis car les spires offrent une grande surface de contact os/implant et favorisent donc l'ancrage ainsi qu'une meilleure répartition des forces transmises à l'os [12].

Troisièmement, l'implant étant inséré dans la mâchoire, un matériau biocompatible doit être choisi. La biocompatibilité est définie comme « la capacité d'un matériau à accomplir une fonction spécifique avec une réaction appropriée de l'hôte» [13] ; on parle alors de biomatériau. Un biomatériau peut être défini comme un matériau artificiel ou naturel visant à la reconstruction d'un

organe ou au remplacement de tissus. La Conférence de Chester de la Société Européenne des Biomatériaux, dite conférence du consensus, en 1986, a retenu la définition suivante d'un biomatériau : « matériau non vivant utilisé dans un dispositif médical destiné à interagir avec les systèmes biologiques » [14]. Ces matériaux sont en contact direct avec le corps humain et doivent donc avoir des propriétés adaptées. En d'autres termes, un biomatériau ne doit pas être toxique pour son hôte, il ne doit pas provoquer de réaction inflammatoire chronique et doit être chimiquement stable, c'est-à-dire résistant à la corrosion dans le corps [15]. Les biomatériaux les plus utilisés pour la fabrication d'implants dentaires seront détaillés dans la partie suivante.

Finalement, l'implant doit être stérilisé avant son utilisation. Pour cela, de nombreuses techniques existent : l'autoclave, la stérilisation au rayonnement gamma, l'utilisation d'oxyde d'éthylène, d'ozone, etc [16]. Toutes présentent des avantages et inconvénients mais le choix du matériau et de la technique de stérilisation doit être fait conjointement afin que cette dernière ne détériore pas le matériau ou ses propriétés.

Un dernier point qui peut être abordé est l'aspect esthétique car l'implant et/ou l'épaulement du pilier sont parfois visibles à cause d'une rétractation de la gencive voire d'une perte osseuse souvent remarquée après implantation. Plusieurs hypothèses ont été émises : la présence d'une micro-fuite entre le pilier et l'implant entraînant le libération de toxines bactériennes et provoquant une réaction péri-implantaire locale ; un mauvais design/revêtement de l'implant ; des contraintes mécaniques trop importantes au niveau du col implantaire ; une absence d'attache tissulaire satisfaisante capable de protéger l'os crestal ; un état parodontal instable [12].

I-1-3 *Les biomatériaux utilisés*

Afin de répondre aux conditions mécaniques et biologiques citées ci-dessus, différents matériaux peuvent être mis en œuvre pour la fabrication des implants dentaires. Les plus utilisés actuellement sont les métaux et leurs alliages et notamment le titane et son alliage le Ti6Al4V. L'utilisation des céramiques et des polymères est moins répandue car ces derniers présentent des inconvénients qui seront décrits par la suite. Cependant, des solutions ont été développées afin d'améliorer les propriétés de ces types de matériaux et donc de permettre leur utilisation pour la conception d'implants dentaires. De nouveaux matériaux hybrides ou composites sont également en cours d'étude.

Les métaux sont les matériaux les plus couramment mis en œuvre car ils présentent des propriétés mécaniques adaptées. On peut notamment citer le titane pur et ses alliages, les alliages à base de cobalt ainsi que les aciers inoxydables car ils sont biocompatibles, ils peuvent supporter des charges importantes, résister en fatigue, subir une déformation plastique avant rupture et présentent une résistance à la corrosion [17]. La limite élastique ainsi que la résistance en fatigue de ces matériaux dépendent du type d'alliage et de ses traitelments ultérieurs [18]. Les caractéristiques mécaniques de ces différents matériaux sont résumées dans le Tableau I-1.

Le titane et ses alliages sont largement employés car leur module d'Young est le plus bas de tous les métaux et alliages précédemment cités ; cela permet donc de limiter ou prévenir le « stress-shielding ». Le titane présente une bonne résistance à la corrosion grâce à la formation d'une couche protectrice d'oxyde qui se présente sous deux phases cristallines (anatase et rutile). Il subit, vers 885 °C, une transformation d'une structure compacte hexagonale appelée phase alpha à une structure cubique centrée dénommée béta. Les titanes peuvent donc être classés en α, proche- α, proche-β et β. Pour les applications médicales, l'alliage de titane Ti6Al4V (α+β-Ti) est très utilisé pour ses propriétés mécaniques. Cependant un effet toxique dû au relargage des ions aluminium et vanadium fait polémique mais les avis divergent [19], [20] . Le titane commercialement pur (α –Ti) est couramment utilisé pour les implants dentaires. Plusieurs grades sont disponibles en fonction de leur concentration en oxygène et en fer. Les grades les plus purs ont une dureté, une résistance à la rupture ainsi qu'une température de transformation inférieure aux grades les moins purs [18].

Les alliages de chrome-cobalt possèdent une meilleure résistance à la corrosion que l'acier inoxydable. Cependant ils sont difficiles à usiner. Les propriétés mécaniques diffèrent entre les alliages moulés ou forgés. Cette dernière méthode est préférée car le moulage mène à la formation de gros grains dendritiques qui diminuent la limite élastique de l'alliage. De plus, des pores et des inclusions peuvent être obtenus par cette technique [21].

Les aciers inoxydables sont des aciers contenant au minimum 10,5 % de chrome afin de leur conférer une bonne résistance à la corrosion. Ils peuvent être classés en fonction de leur microstructure à savoir martensitique, ferritique, austenitique ou duplex (composé de phases ferritique et austénitique). L'acier inoxydable austénitique est le plus utilisé pour les matériaux implantables et plus particulièrement le 316L composé de 16 - 18 % de chrome, de 10 - 13 % de nickel et de 2 - 3 % de molybdène. Le L signifie « low carbon » (< 0,03 %) ce qui en fait un acier résistant à la corrosion par piqûres [21]. Des éléments constitutant ce matériau peuvent également être relargué dans les fluides biologiques. De plus, il peut également entrainer des allergies chez certains patients à cause de la présence de nickel [22].

Tableau I-1 : Propriétés mécaniques des principaux métaux utilisés pour la fabrication d'implants dentaires [données CES Edupack 2017]

Matériau	Module d'Young (GPa)	Limite élastique (MPa)	Contrainte à la rupture (MPa)	Résistance en compression (MPa)	Résistance en fatigue à 10^7 cycles (MPa)	Ténacité (MPa.√m)
Alliage chrome-cobalt	220 – 230	440 – 460	640 – 660	440 – 460	300 – 320	70 – 80
Ti-6Al-4V (recuit)	110 –119	786 – 910	862 – 1200	848 – 1080	529 – 566	84 – 107
Titane pur (grade 2)	100 – 105	276 – 360	345 – 490	170 – 210	245 – 296	55 – 60
Titane pur (grade 4)	105 – 120	483 – 570	552 – 690	310 – 400	363 – 408	45 – 50
Acier inoxydable austénitique (316L)	195 – 205	190 – 220	490 – 520	190 – 220	256 – 307	90 – 100
Os cortical	10 – 26	45 – 144	49 – 167	130 – 250	23 – 80	3,3 – 6,1

Les céramiques sont plus résistantes à la dégradation que les métaux dans beaucoup d'environnements. De plus, un avantage non négligeable de ces matériaux est l'aspect esthétique si la gencive se rétracte légèrement après implantation. Cependant, leur comportement fragile qui est dû à leur faible ténacité représente leur inconvénient principal. Enfin, leur mise en forme est plus délicate que celle des métaux. Pour la conception d'implants dentaires, seules la zircone et l'alumine peuvent être utilisées car elles possèdent une combinaison attractive de propriétés de résistance à la corrosion, de résistance à l'usure et de résistance mécanique, en plus d'être biocompatibles.

Les principaux avantages de la zircone sur l'alumine dans l'application dentaire sont sa plus grande ténacité et sa plus grande résistance à la flexion pour un module d'Young inférieur (Tableau I-2). La zircone pure existe sous la forme d'une phase monoclinique à température ambiante et ce jusqu'à 1170 °C. A cette température, une transformation de phase se produit pour conduire à une phase tétragonale puis, à 2370 °C, une transformation en une phase cubique est enregistrée. Afin de mettre en forme des céramiques à base de zircone, des températures élevées sont donc mises en œuvre afin de permettre le frittage des poudres. Le refroidissement engendre alors une transition de phases (de tétragonale à monoclinique) qui est associée à une expansion de volume de 3 à 5 % ce qui

génère des contraintes qui peuvent être responsables de fissures et limitent donc l'utilisation de la zircone pure. Pour pallier ce problème, les phases obtenues à hautes températures doivent être stabilisées jusqu'à température ambiante. L'ajout d'oxydes tels que MgO, CaO ou Y_2O_3 permet de stabiliser ces phases. Il est alors possible d'obtenir une céramique multiphasée nommée zircone partiellement stabilisée *(Partially Stabilized Zirconia : PSZ)* comportant une microstructure majoritairement cubique avec des précipités mineurs de phases monoclinique et tétragonale. La caractéristique spécifique de cette céramique multiphasée et que lorsque des contraintes sont appliquées et qu'une fissure se propage au sein de la céramique, les grains de zircone métastables ayant une phase tétragonale peuvent se transformer en une phase monoclinique stable et donc grossir permettant alors d'appliquer une contrainte de compression à la pointe de la fissure empêchant sa propagation. Cela permet donc d'améliorer la ténacité de la céramique. Il est également possible d'obtenir une phase tétragonale stable à température ambiante connu comme zircone tétragonale généralement stabilisée à l'yttrium *(Yttria Tetragonal Zirconia Polycrystal : Y-TZP)*. La proportion de phase tétragonale obtenue à température ambiante dépend de la taille des grains, de la concentration en dopant, de la contrainte exercée sur eux par la matrice et de l'histoire thermique du matériau.

Afin de renforcer la ténacité de l'alumine, une stratégie similaire à celle pour la TZP a été proposée consistant en la dispersion de particules de zircone dans une matrice d'alumine. Grâce à la précontrainte créée par l'expansion de volume de la zircone durant le refroidissement du matériau, celui-ci a des propriétés mécaniques améliorées, notamment la ténacité. Ce matériau est appelé alumine renforcée en zircone *(Zirconia Toughened Alumina : ZTA)* [21].

Tableau I-2 : Propriétés mécaniques des principales céramiques utilisées pour la fabrication d'implants dentaires [données CES Edupack 2017]

Matériau	Module d'Young (GPa)	Résistance à la flexion (MPa)	Résistance à la compression (MPa)	Ténacité (MPa. √m)	Dureté (HV)
α-Al_2O_3	380 – 400	540 – 560	4400 – 4600	1,2 – 1,53	1960 – 2300
ZrO_2 (Y-TZP)	205 – 212	850 – 910	1900 – 2000	9 – 10,5	1200 – 1250
ZrO_2 (PSZ)	195 – 205	952 – 1050	1900 –2100	7,6 – 9,2	1330 – 1470
ZrO_2 renforcée Al_2O_3 (ZTA)	366 – 384	429 – 473	2190 – 2420	6,5 – 13	656 – 725

Les polymères sont très peu utilisés car ils ne possèdent pas des propriétés mécaniques adaptées à cette application et ne sont pas toujours stables chimiquement. Le polyetheretherketone (PEEK) est néanmoins un polymère mis en oeuvre dans le domaine des implants dentaires grâce à sa biocompatibilité et ses bonnes propriétés mécaniques. Ces dernières peuvent être améliorées par l'ajout de fibres de carbone ou de verre (Tableau I-3). Ce matériau possède une bonne stabilité chimique de part son fort taux de cristallinité [21]. Avec ce matériau comme avec les céramiques, le problème esthétique en cas de léger déchaussement n'existe pas.

Tableau I-3 : Propriétés mécaniques des principaux polymères utilisées pour la fabrication d'implants dentaires [données CES Edupack 2017]

Matériau	Module d'Young (GPa)	Limite élastique (MPa)	Contrainte à la rupture (MPa)	Résistance à la flexion (MPa)	Résistance en fatigue à 10^7 cycles (MPa)	Ténacité (MPa.√m)
PEEK seul	3,8 – 4,0	87 – 95	70 – 103	105 – 116	28 – 41	2,7 – 4,3
PEEK + 30% fibre de carbone	21 – 25	190 – 228	190 – 228	276 – 335	115 – 127	6,3 – 7,9
PEEK + 30% fibre de verre	9 – 11	124 – 158	155 – 197	228 – 290	62 – 81	5,3 – 7,9

D'autres matériaux ont aussi été développés tels que ROXOLID®. Cet alliage métallique, composé de 15 % de zirconium et de 85 % de titane, possède une résistance à la traction et à la fatigue plus élevées que celles du titane pur ainsi que d'excellentes capacités d'ostéointégration. Ceci permettrait de fabriquer des implants plus fins et donc moins invasifs [23].

I-2. L'os et la reconstruction osseuse

Afin de mieux comprendre les phénomènes d'intégration des implants dentaires dans l'os, rassemblés généralement sous le terme ostéointégration, ainsi que les paramètres l'influençant, nous nous intéressons dans cette partie au tissu osseux ainsi qu'au remodelage et à la cicatrisation de ce dernier.

I-2-1 La structure de l'os

I-2-1-a. Anatomie faciale et types d'os

L'os maxillaire ainsi que la mandibule (Figure I-4) sont les deux os supportant les dents et donc susceptibles de recevoir un implant dentaire. L'os maxillaire constitue le squelette de la mâchoire supérieure alors que la mandibule est l'os symétrique constituant l'étage inférieur de la face.

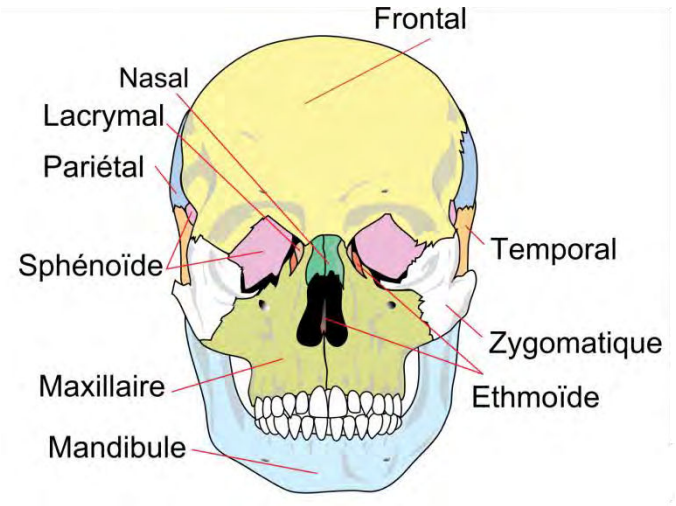


Figure I-4 : Schéma des différentes parties osseuses du crâne
Source : https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-crane-8147/

Plusieurs types d'os composent les éléments précédemment cités. Nous pouvons distinguer (Figure I-5) [24] :

- L'*os cortical,* aussi appelé *os compact,* dont la structure est adaptée pour résister aux contraintes mécaniques et constitue la partie périphérique de l'os. Il a une structure lamellaire et est constitué de groupes de cylindres concentriques formés de fibres. Au centre de chaque groupe, appelé ostéone, se trouvent les canaux de Havers, siège des vaisseaux sanguins.

- L'*os trabéculaire* ou *os spongieux*, se présente comme de minces plaques, appelées trabécules, séparées par de la moelle, il est donc peu dense. De plus, il possède une faible résistance mécanique et est alors toujours enveloppé par de l'os compact. L'os spongieux étant riche en cellules conjonctives adipeuses et en éléments sanguins, il permet les échanges métaboliques.

- *L'os alvéolaire*, spécifique aux os de la mâchoire, assure le support dentaire en constituant leur logement à l'aide du cément et du ligament parodontal [25]. L'os alvéolaire « naît, vit et meurt » avec les dents. La croissance ainsi que l'évolution de l'organe dentaire sont donc liées avec celle de l'os alvéolaire [26]. Cet os alvéolaire est l'extension du maxillaire et de la mandibule. Il est formé de 2 structures : l'os alvéolaire qui prolonge l'os basal (maxillaire ou mandibule) sans démarcation et du *procès alvéolaire* qui est l'os entourant les alvéoles dentaires permettant le soutien des dents. L'os alvéolaire se compose d'un os spongieux entouré de deux tables en os cortical [27]. Il est en effet constitué en périphérie par une couche externe d'os compact et d'une paroi interne d'un os particulier appelé fasciculé. Ce dernier est formé de l'extrémité des fibres du ligament alvéolo-dentaire et des fibres de l'os lui-même. En radiologie cette superposition s'appelle lamina dure. Entre ces deux parois réside un os spongieux [28]. Cet os est plus épais dans la mandibule que dans le maxillaire [29].

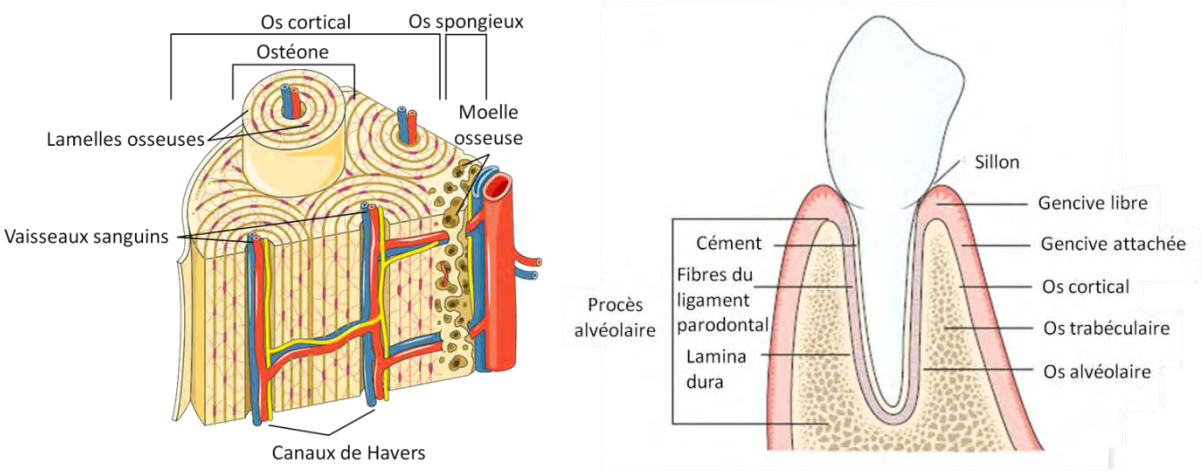


Figure I-5 : Schémas représentatifs de la structure de l'os (à gauche) et de l'environnement dentaire (à droite, modifié à partir de [2])

De plus, une classification des os de la mandibule et du maxillaire a été proposée par *Lekhom et Zarm* en 1985 en fonction de la qualité ainsi que la densité osseuse [30] :

- Type I : la mâchoire est composée d'os compact homogène ;
- Type II : une couche épaisse d'os compact entoure un os trabéculaire dense ;
- Type III : une fine couche d'os cortical entoure un os trabéculaire ;
- Type IV : une fine couche d'os cortical entoure un os trabéculaire de faible densité ;

La répartition de ces différents types d'os dans les éléments constituant la mâchoire est représentée sur la Figure I-6.

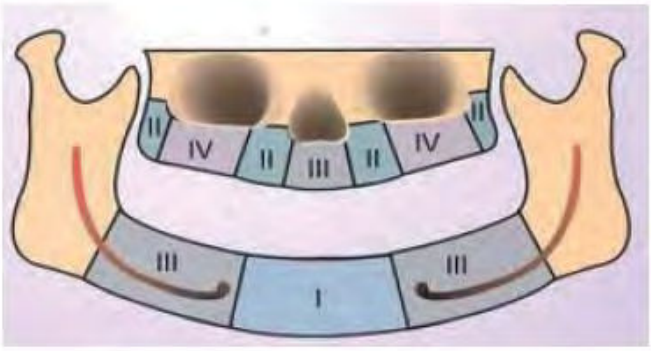


Figure I-6 : Schéma représentant la qualité osseuse (classée de I à IV) dans les différents secteurs de la mâchoire [31]

Pour finir, l'os est un tissu conjonctif spécialisé dans lequel sont associés une phase minérale sous forme de cristaux de phosphate de calcium de structure apatitique (ou apatite) et une matrice organique fibreuse. L'os se compose de 60 % (m/m) de phase minérale, 35 % (m/m) de matrice osseuse organique et 5 % (m/m) de cellules spécifiques à celui-ci [32]. Ces différents constituants sont décrits par la suite.

I-2-1-b. La matrice organique

La matrice organique de l'os se compose essentiellement de fibres de collagène de type I (90%) qui constituent l'architecture du tissu osseux. Des protéines collagéniques, comme le collagène de type V et III, ainsi que des protéines non collagéniques composent les 10 % restant [32], [33].

Les fibres de collagène sont formées grâce à l'assemblage de fibrilles de collagène. Le collagène de type I est une protéine organisée en fibres parallèles au sein d'une même couche et chaque couche possède une orientation différente de ses fibres. Cela explique l'aspect lamellaire de l'os. Cette structure collagénique, de part sa grande élasticité, permet une grande résistance à la rupture en permettant une dissipation d'énergie pendant la déformation. La densité ainsi que le type de réticulation entre les fibres de collagène dictent la rigidité et la ténacité du tissu osseux [34].

Les protéines non collagéniques, quant à elles, régulent la minéralisation et la croissance de l'os. Elles sont nombreuses et ont des fonctions variées. Certaines telles que l'ostéonectine, l'ostéocalcine et la sialoprotéine osseuse jouent un rôle sur la minéralisation osseuse alors que d'autres influencent le remodelage osseux. Des facteurs de croissance *(Insulin-like growth factor-1 (IGF-1), Insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5), Bone Morphogenetic protein 2 (BMP-2), Transforming Growth factor beta 1 (TGF-β1))* agissant sur les ostéoblastes, les cellules responsables de la reconstruction osseuse, ainsi que des protéines caractéristiques de la

vascularisation *(Fibroblast growth factor (FGF), Vascular endothelial growth factor (VEGF))* sont également présents [35], [36].

I-2-1-c. Le minéral osseux

La fraction minérale de l'os est composée de cristaux nanométriques d'apatite sous forme de plaquettes allongées selon l'axe c de la structure hexagonale de l'apatite [37]. Ces cristaux se forment au sein des fibres de collagène. Le processus de formation de ces cristaux est initié par un processus de germination hétérogène. Par la suite, la germination de nouveaux cristaux ainsi que le grossissement des cristaux précédemment formés se déroulent venant ainsi occuper tout l'espace libre entre les fibrilles de collagène de l'os [38]. Le tissu osseux est donc un matériau composite organique-inorganique.

Les cristaux d'apatite décrits précédemment correspondent à une apatite carbonatée déficiente en ions calcium et hydroxyde. En effet, la non-stœchiométrie de cette apatite s'explique principalement par la substitution des ions PO_4^{3-} par des ions bivalents tels que CO_3^{2-} et/ou HPO_4^{2-}. Il a été montré que la quantité d'ions HPO_4^{2-} dans l'os diminue alors que la quantité d'ions CO_3^{2-} augmente avec l'âge de l'hôte. L'incorporation de ces deux ions bivalents engendre une perte de charges négatives dans le cristal d'apatite. Ces dernières sont majoritairement compensées par des lacunes en ions calcium et hydroxyde. La formule générale de l'apatite constituant l'os peut alors s'écrire [37] :

$$Ca_{10-x}(PO_4)_{6-x}(HPO_4,CO_3)_x(OH)_{2-x}$$

Ces nanocristaux d'apatites nanocristallines déficientes en calcium constituant la phase minérale du tissu osseux présentent également à leur surface une couche hydratée contenant des ions labiles (Figure I-7). Cette couche hydratée a une composition et une structure différente de celle du cœur du cristal apatitique et représente un domaine non-apatitique [37]. Elle permet de réduire l'énergie de surface des nanocristaux et alimente la croissance des domaines apatitiques. De plus, les échanges ioniques entre la couche hydratée et les fluides environnants sont favorisés en comparaison avec le domaine apatitique du nanocristal. Cela permet donc d'expliquer la grande réactivité de surface des apatites biologiques [39].

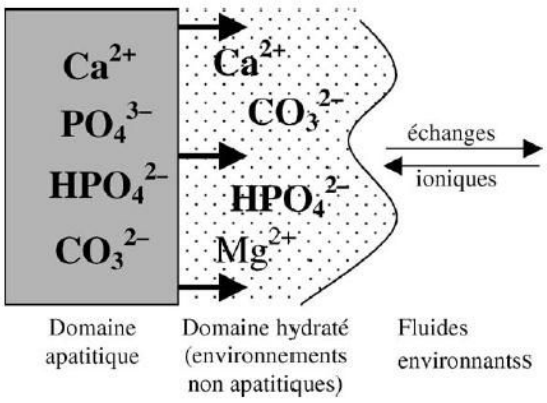


Figure I-7 : Schéma représentant la coupe d'un nanocristal d'apatite biologique montrant un cœur de structure apatitique et un domaine hydraté constitué d'ions dans des environnements non-apatitiques facilement échangeables avec les fluides biologiques [39]

I-2-2 *Les cellules osseuses et la reconstruction osseuse*

I-2-2-a. Les cellules osseuses

On distingue trois types de cellules osseuses à savoir [24], [32], [40] :

- Les ostéoclastes : ce sont des cellules géantes poly-nucléées de type macrophage. Elles sont responsables de la résorption osseuse. Pour cela, elles doivent s'ancrer à la matrice osseuse. La cellule est ensuite activée et la membrane plasmique, en contact avec le tissu osseux, acquiert une structure de type « bordure en brosse ».

- Les ostéoblastes : ils sont issus des cellules stromales de la moelle osseuse et responsables de la formation et de la minéralisation du tissu osseux. Ils jouent un rôle important sur le remodelage osseux car ils synthétisent des facteurs de croissance. Leur prolifération diminue avec l'âge.

- Les ostéocytes : ce sont des ostéoblastes englobés dans l'os qu'ils ont contribué à fabriquer. Ils sont reliés entre eux ainsi qu'aux cellules bordantes (ostéoblastes non actives) par des canicules.

I-2-2-b. Le remodelage osseux

Grâce à l'action des ostéoblastes et des ostéoclastes, le tissu osseux est amené à se renouveler, vraisemblablement dans le but de conserver ses propriétés biomécaniques et de maintenir la réactivité du minéral osseux. Le cycle de remodelage de l'os est d'environ 3 mois chez l'adulte. Il faut noter que l'os trabéculaire subit le processus de remodelage plus fréquemment que

l'os cortical car il possède une grande surface de contact entre le tissu hématopoïétique[1] et les cellules osseuses. Il peut alors être considéré que 80 % de l'os trabéculaire est renouvelé chaque année alors que seulement 4 % de l'os cortical l'est [40]. Ce processus de remodelage osseux siège dans des unités de remodelage d'environ 100 µm de diamètre appelées BMU *(Bone Remodelling Units)* et peut être découpé en cinq phases distinctes représentées sur la Figure I-8 et explicitées après [32] :

La première est la *phase de quiescence* qui peut durer des années dans des conditions normales. Durant celle-ci les cellules bordantes, ou ostéoblastes quiescents, recouvrent la majorité de la surface de l'os afin d'empêcher les ostéoclastes de l'atteindre.

Puis vient la *phase d'activation* contrôlée par des signaux hormonaux et physiques. Des pré-ostéoclastes, précurseurs mononucléés, vont migrer vers la surface osseuse. Puis, la fusion de ces cellules engendre la formation des ostéoclastes. Une fois que les cellules bordantes se seront rétractées sous l'action conjuguée de la parathormone *(Parathyroïd hormone – PTH)*, du calcitriol ($1,25(OH)_2D$) et de la prostaglandine E2, les ostéoclastes vont pouvoir s'attacher à la matrice osseuse et assurer la fonction de résorption.

La *phase de résorption osseuse* peut alors commencer. Les ostéoclastes, possédant une pompe à protons de type vacuolaire, acidifient leur environnement jusqu'à pH = 5 grâce à la libération de protons. Cette acidification conduit alors à la dissolution de la matrice minérale. Les ostéoclastes vont également sécréter dans le micro-compartiment plusieurs enzymes (cathepsines, hydrolases,…) qui vont dégrader la partie organique de l'os. Ces deux dégradations engendrent la formation d'une cavité appelée lacune de résorption dans laquelle un capillaire sanguin va se mettre en place au centre du tunnel dont les parois vont se tapisser d'ostéoblastes.

La *phase d'inversion* du processus intervient suite à l'augmentation de la concentration en calcium dans la cavité de résorption résultant de la dégradation de la matrice osseuse. Ce calcium est absorbé par la cellule puis libéré dans l'espace extra-cellulaire. Au cours du transit cellulaire, l'augmentation de la concentration en calcium va induire une désorganisation des phénomènes d'adhérence entre les ostéoclastes et la surface osseuse. Aussi, les ostéoclastes vont libérer des facteurs de croissance (TGFβ) lors de la phase d'activation permettant d'attirer les pré-ostéoblastes qui vont par la suite se différencier en ostéoblastes.

[1] Tissu principalement composé de la moelle osseuse permettant la formation des cellules sanguines

La *phase de formation* permet la mise en route du processus de formation osseuse. Celui-ci résulte de la prolifération des ostéoblastes matures. Ces cellules apposent des couches concentriques d'os néoformé et non calcifié, appelé ostéoïde, afin de permettre le comblement de la lacune de résorption. Seul l'étroit canal contenant le vaisseau sanguin persiste. C'est un phénomène rapide car cette matrice osseuse atteint une épaisseur de 20 µm en un mois. Certains ostéoblastes restent piégés dans l'os néoformé ; ce sont les ostéocytes. Le processus de minéralisation de l'ostéoïde commence alors.

Au cours de la vie, le processus de remodelage osseux peut se décomposer en trois phases. La première est une phase de croissance durant laquelle le capital osseux augmente : il y a plus de matrice osseuse synthétisée que résorbée. Cette phase atteint son apogée environ 3 ans après la puberté. Une phase d'équilibre s'établit jusqu'aux environs de 35 ans. Puis une phase de déficit prend place qui persiste jusqu'à la fin de la vie. Cette dernière phase est plus prononcée chez la femme que chez l'homme.

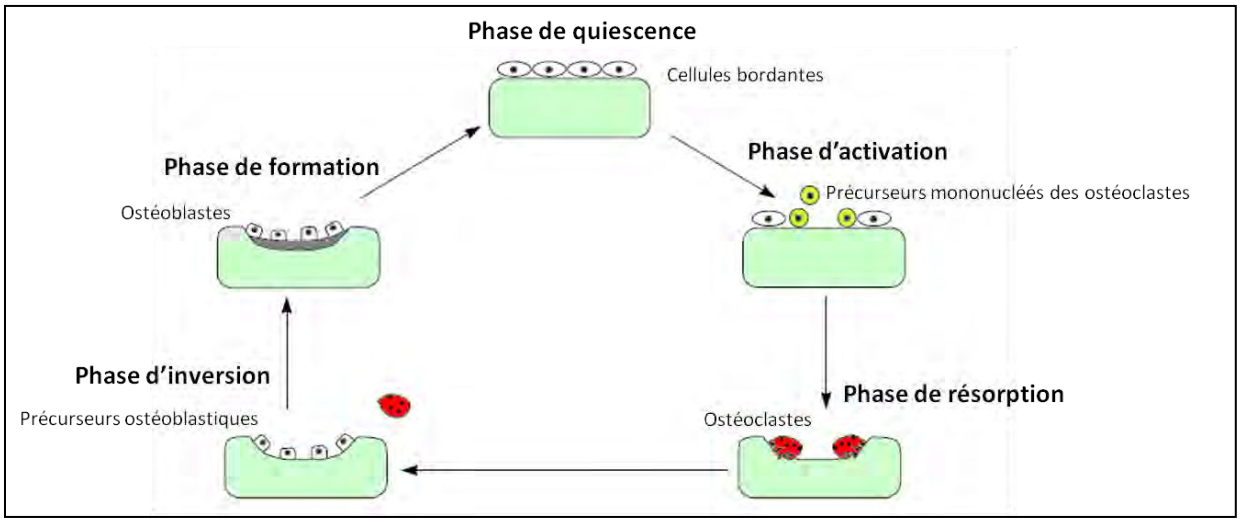


Figure I-8 : Schéma représentant les différentes phases du remodelage osseux ; modifié de [40]

I-2-2-c. La cicatrisation après implantation

La cicatrisation de l'os après la pose de l'implant est un phénomène important à comprendre afin d'être en mesure de le favoriser. En effet, différentes études démontrent qu'un schéma de cicatrisation commun existe [27]. Celui-ci peut être décomposé en deux grandes étapes.

Le stade précoce de la guérison s'articule autour de la réponse initiale du corps au matériau étranger implanté : adsorption de protéines, activation plaquettaire, formation d'un caillot et réaction inflammatoire. Le succès de la guérison au cours de cette étape dépend de la stabilité

initiale de l'implant dans l'os et des caractéristiques de la surface de l'implant. La surface de l'implant nécessite en effet une topographie spécifique pour permettre une liaison avec l'os. A la fin de cette étape de cicatrisation un os fibreux immature, comblant l'espace entre le tissu osseux de l'hôte et la surface de l'implant, est formé. Ceci peut être accompli par l'ostéogenèse à la fois de contact et à distance.

Puis, la seconde étape de la guérison osseuse implique le remodelage de l'os immature précédemment formé afin d'obtenir un os lamellaire mature. Comme expliqué précédemment, le remodelage osseux est un processus continu qui se produit tout au long de la vie et les contraintes mécaniques subies par l'os entourant l'implant influencent significativement ce processus de remodelage. Les différentes étapes de la cicatrisation osseuse sont explicitées plus en détail ci-après [41], [42].

Dans un premier temps, l'implant est en contact avec le sang. De cela résulte une série de processus biologiques à savoir : le dépôt de protéines à la surface de l'implant, la coagulation, la réaction inflammatoire puis la formation du tissu osseux.

Une monocouche de protéines s'adsorbent sur la surface de l'implant quelques secondes après l'implantation. Celles-ci vont par la suite interagir avec les plaquettes sanguines et les cellules mésenchymateuses. La composition de cette couche est largement déterminée par les propriétés de surface de l'implant et le type de protéines adsorbées à la surface de l'implant peut déterminer la réponse du tissu hôte et donc l'efficacité de la cicatrisation.

Par la suite, les plaquettes, qui sont les premières cellules à venir en contact avec la surface de l'implant, libèrent des facteurs de croissance et s'agglomèrent afin de permettre la formation du caillot. Le fibrinogène, une protéine importante du plasma sanguin, aide aussi à la coagulation. La formation du caillot donne les composantes mécaniques et biochimiques nécessaires à l'ostéoconduction[2]. Ce caillot fibrillaire se transforme peu à peu en tissu de granulation [27]. Ce dernier est une matrice 3D provisoire permettant l'adhésion cellulaire et la vascularisation autour de l'implant. Les plaquettes sont activées par le contact avec la surface de l'implant et le degré d'activation est grandement influencé par la topographie de surface.

La réponse inflammatoire apparait conjointement et interagit avec la coagulation. Les neutrophiles[3] et les monocytes[4] sont des leucocytes[5] jouant un rôle important dans la réponse

[2] Ensemble des phénomènes permettant aux éléments cellulaires (cellules ostéocompétentes), vasculaires et ostéoinducteurs, en provenance du lit osseux, d'atteindre la zone osseuse à réparer.
[3] Globules blancs impliqués dans l'absorption et dans la digestion de bactéries.
[4] Globules blancs de taille importante ayant pour fonction de détruire certains types de bactéries et de virus.

inflammatoire. Après les plaquettes, ce sont les cellules qui migrent vers la surface de l'implant. Des facteurs de croissance sont également exprimés comme les facteurs de croissance du tissu (TGF-β), les protéines morphogéniques osseuses (BMPs) et les facteurs de croissance et de différentiation *(Growth and differentiation factors (GDFs))*. Ces différents facteurs favorisent la formation osseuse. Aussi, les cellules ostéogéniques nécessitent un apport sanguin ; l'angiogenèse est donc très importante à cette étape. Des facteurs angiogéniques sont alors également exprimés.

Suite à la formation du caillot sanguin et de la matrice provisoire 3D, un os fibreux non lamellaire se forme. Pour se faire, les cellules mésenchymateuses migrent à travers la matrice 3D vers la surface de l'implant. Ces cellules se différencient en ostéoblastes qui, à leur tour, sécrètent de la matrice osseuse. Une couche d'une épaisseur variant de 0,2 à 0,5 µm, non fibrillaire et non collagénique, uniquement calcifiée se forme à la surface de l'implant au cours des premières 24 h. Plus loin de cette zone, il y a un compartiment collagénique essentiellement constitué de collagène de type I. La minéralisation de celui-ci commence après celle de la couche non collagénique. Il y a alors formation d'un os fibreux non lamellaire immature de la surface de l'implant jusqu'au bord de l'os entaillé ; c'est l'ostéogenèse de contact.

La formation de l'os peut aussi se mettre en place dans la direction opposée c'est-à-dire allant de la surface de l'os percé et taraudé lors de l'implantation vers la surface de l'implant; c'est l'ostéogenèse à distance. Ici, les ostéocytes présents à la surface (100 - 500 µm) de l'os entaillé durant l'implantation meurent à cause d'une nécrose thermique. L'os mort est alors résorbé par les ostéoclastes. Des ostéoblastes différenciés migrent alors à la surface de l'os pour former une matrice osseuse non collagénique comme décrit précédemment à la surface de l'implant. Ce processus est suivi par la formation d'une couche contenant du collagène et conduit ainsi à l'apposition d'un os fibreux de l'os entaillé vers l'implant.

La formation de l'os après implantation se fait donc dans deux directions opposées et s'étend de l'implant à l'os après 4 semaines. Il faut noter que l'ostéogenèse de contact est 30 % plus rapide que l'ostéogenèse à distance. La topographie de surface de l'implant joue alors un rôle important car elle doit permettre l'ostéogenèse de contact. Si l'ostéogenèse à distance est le seul processus qui a lieu, il n'y a pas de lien entre l'os et l'implant et donc aucune accroche mécanique de ce dernier dans la mâchoire.

[5] Globules blancs produits par la moelle osseuse à un ou plusieurs noyaux présents dans le sang jouant un rôle important dans la défense immunitaire.

Après cela, le processus de remodelage osseux précédemment décrit se met en place afin de renouveler le tissu osseux abîmé de l'hôte et de transformer l'os fibreux en os mature lamellaire ayant des propriétés mécaniques bien plus élevées.

Le temps nécessaire à ces différentes étapes varie en fonction de l'individu. Le tissu osseux mature est présent dans les 3 à 6 mois suivant l'implantation dépendamment du site d'implantation (maxillaire ou mandibulaire) et du patient. Le remodelage osseux se poursuit pendant la première année suivant l'implantation [27].

I-2-3 Le principe d'ostéointégration

L'intégration d'un implant dans l'os, appelé implant endo-osseux, a été découvert par Brånemark qui introduisit le concept d'ostéointégration. En effet, Per Ingvar Brånemark, chirurgien orthopédiste et biologiste suédois, a découvert l'ostéointégration en étudiant la circulation sanguine et la réparation osseuse. Celui-ci souhaitait implanter une chambre optique en métal au sein d'un os. Il utilisa donc le titane pour réaliser cela et découvrit, une fois l'expérimentation achevée, qu'il était très difficile de la retirer. Celui-ci a donc proposé d'utiliser ce matériau en chirurgie osseuse et donc en implantologie orale. Brånemark et ses collaborateurs sont donc arrivés à défendre l'idée que la pérennité de l'implantation résulte d'un contact direct os/implant sans interposition fibreuse. En 1977, ils ont introduit le terme d'ostéointégration pour décrire cela et définir « une jonction anatomique et fonctionnelle directe entre l'os vivant et remanié et la surface de l'implant mis en charge » [43].

Plus particulièrement, l'ostéointégration dépend de deux facteurs principaux que sont la stabilité primaire et la stabilité secondaire de l'implant dans l'os.

La *stabilité primaire*, aussi appelée *stabilité mécanique*, est définie par l'ancrage mécanique de l'implant dans l'os juste après l'implantation grâce à la surface de contact direct entre l'implant et le tissu osseux. Il a été observé que juste après l'implantation, les hauts de spires de l'implant dentaire sont en étroit contact avec l'os de l'hôte alors que les bas de spires n'ont qu'un contact limité avec celui-ci [42]. La stabilité primaire dépend alors de la forme de l'implant, de son état de surface, de la qualité de l'os mais aussi de la préparation du site implantaire. Au cours de la cicatrisation et du remodelage du tissu osseux, la stabilité primaire diminue.

La stabilité *secondaire* ou *biologique*, quant à elle, provient de la cicatrisation osseuse décrite précédemment qui permet la création de nouvelles surfaces de contact entre le tissu osseux et l'implant. En effet, la formation de l'os fibreux (os immature) permet la stabilisation secondaire de l'implant dans le tissu osseux de l'hôte.

La stabilisation primaire décroit avec le temps après implantation car l'os qui est en contact direct avec l'implant meurt et est résorbé par les ostéoclastes alors que la stabilisation secondaire prend place en créant une liaison avec l'os néoformé au bout de 4 à 5 semaines avant d'atteindre un plateau après 8 semaines [42]. Une fois la cicatrisation terminée, la stabilité mécanique initiale est entièrement remplacée par la stabilité biologique (Figure I-9) [43].

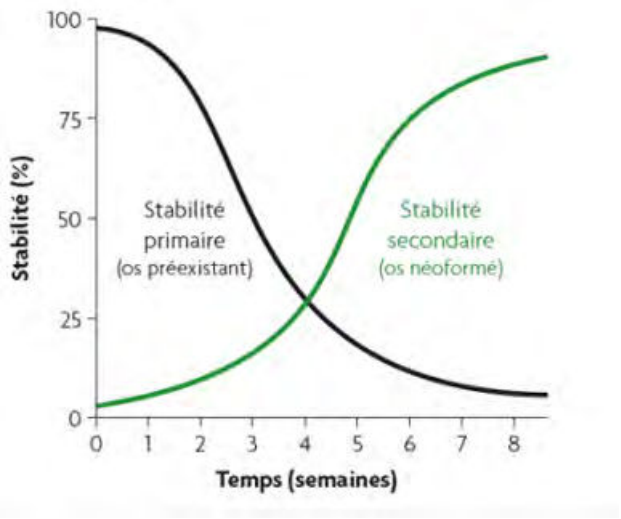


Figure I-9 : Evolution des stabilités primaire et secondaire lors de l'ostéointégration en fonction du temps de cicatrisation [43]

D'après *Albrektsson* et ses collaborateurs, l'ostéointégration dépend principalement des paramètres suivants [44] :

- Le matériau avec lequel l'implant est réalisé. Comme dit précédemment, celui-ci doit être biocompatible, capable de supporter les contraintes mises en jeu lors de l'implantation puis lors de la mastication et avoir une importante résistance à la corrosion.

- Le design de l'implant où une forme cylindrique et filetée permet une meilleure ostéointégration grâce à un contact maximal entre le tissu osseux et l'implant ainsi qu'une stabilité accrue dans l'os.

- La surface de l'implant qui est en contact direct avec les fluides biologiques et plus particulièrement avec les cellules responsables de la reconstruction osseuse.

- La qualité de l'os car un os sain est nécessaire pour une bonne ostéointégration.

- La technique chirurgicale qui doit être rigoureuse afin d'assurer l'ostéointégration. Afin de maitriser le traumatisme lié à l'implantation ; il est par exemple recommandé d'opérer avec une géométrie de foret et une vitesse de rotation adaptées.

- La mise en charge de l'implant. En effet, les micro-mouvements entravent l'ostéogenèse et la mise en charge ne devrait pas être permise avant un contact os-implant complet.

Après la cicatrisation osseuse et avant la mise en charge de l'implant, différentes techniques peuvent être utilisées afin de contrôler l'ostéointégration. On citera ici uniquement les méthodes non destructives [42] :

- Le test le plus classique consiste à venir percuter l'implant avec un objet métallique. L'ostéointégration est correcte si ce dernier renvoie un son clair.

- Le Periostet®, un appareil commercialisé par la société Medizintechnik Gulden est basée sur l'utilisation d'une sonde à ultrasons. Il permet en effet de mesurer la mobilité de l'implant dans l'os. Cette technique est moins dépendante de l'opérateur et plus reproductible que celle précédemment citée.

- Une radiographie peut aussi être réalisée afin d'observer le contact entre l'implant et l'os ainsi que la densité de ce dernier. Cependant, la radiographie ne représente qu'une image en deux dimensions dont l'interprétation peut être délicate.

Combiner la radiographie X ainsi qu'un des deux premiers tests peut alors être une bonne solution pour vérifier l'ostéointégration de l'implant [45].

Des auteurs ont proposés plusieurs critères afin de qualifier une bonne ostéointégration. *Smith et al.* décrivent les critères suivants [46] :

- L'implant est immobile lorsqu'il est testé cliniquement ;

- Aucune évidence de radio transparence péri-implantaire n'est observée ;

- La perte osseuse verticale moyenne par an est inférieure à 0,2 mm après la première année de mise en service ;

- Aucune douleur, inconfort ou infection n'est causé par l'implant.

Adell et al. estiment, quant à eux, que la perte osseuse doit être inférieure à 1,5 mm la première année puis à 0,1 mm les suivantes [47].

Selon ces critères, un taux de réussite de 85 % à la fin d'une période de 5 ans et de 80 % après 10 ans est un niveau minimum de réussite.

Les études ont montré que les propriétés de surface de l'implant dentaire ont une réelle importance sur l'ostéointégration de celui-ci via une cicatrisation efficace de l'os. Ce sont ces propriétés de surface qui vont être présentées et étudiées par la suite.

I-3. La surface : un élément clé de l'ostéointégration

Comme explicité précédemment, l'ostéointégration est très dépendante des propriétés de la surface de l'implant. Celles-ci peuvent être divisées en propriétés topographiques, physicochimiques et mécaniques [48]. La rugosité, l'hydrophilicité et la composition de la surface sont les paramètres qui affectent l'interaction implant-tissu osseux au cours de l'ostéointégration [49]. Cependant, le rôle précis de la chimie et de la topographie de surface lors du début de l'ostéointégration reste encore mal connu. Des paramètres de rugosité et de mouillabilité semblent pourtant mener à une meilleure ostéointégration. De plus, cette surface est en contact avec le milieu biologique et est donc la première soumise à la corrosion ; elle doit donc être adaptée pour résister à cela. Ces trois éléments que sont la rugosité, la mouillabilité et la résistance à la corrosion seront étudiés dans cette partie.

I-3-1 *Propriété topographique : la rugosité*

La rugosité peut être divisée en macro-, micro- et nano- rugosité. Celles-ci peuvent être obtenues par différents traitements tels que le sablage, les attaques acides (mordançage) décrits en détail dans la partie I-4.

Cette rugosité peut être caractérisée par différents paramètres dont le plus utilisé est la rugosité moyenne arithmétique nommée Ra, si celle-ci est mesurée sur une longueur, ou Sa si elle est mesurée sur une surface. Cependant, cet indice n'est pas suffisant pour décrire convenablement une surface. D'autres descripteurs permettent de définir les caractéristiques topographiques d'une surface. Il est possible de citer par exemple : la rugosité moyenne quadratique (Rq/Sq), la hauteur maximale du profil (Rz/Sz), l'asymétrie du profil (Rsk/Ssk) et l'aplatissement du profil (Rku/Sku). Ces paramètres de rugosité sont illustrés sur un profil par la Figure I-10 et les formules sur une surface

sont explicitées dans le Tableau I-4. De plus, ces valeurs peuvent varier en fonction de la technique de caractérisation utilisée. C'est la raison pour laquelle il est difficile de comparer les différentes études menées à cause de la variation et de la qualité de la caractérisation des surfaces.

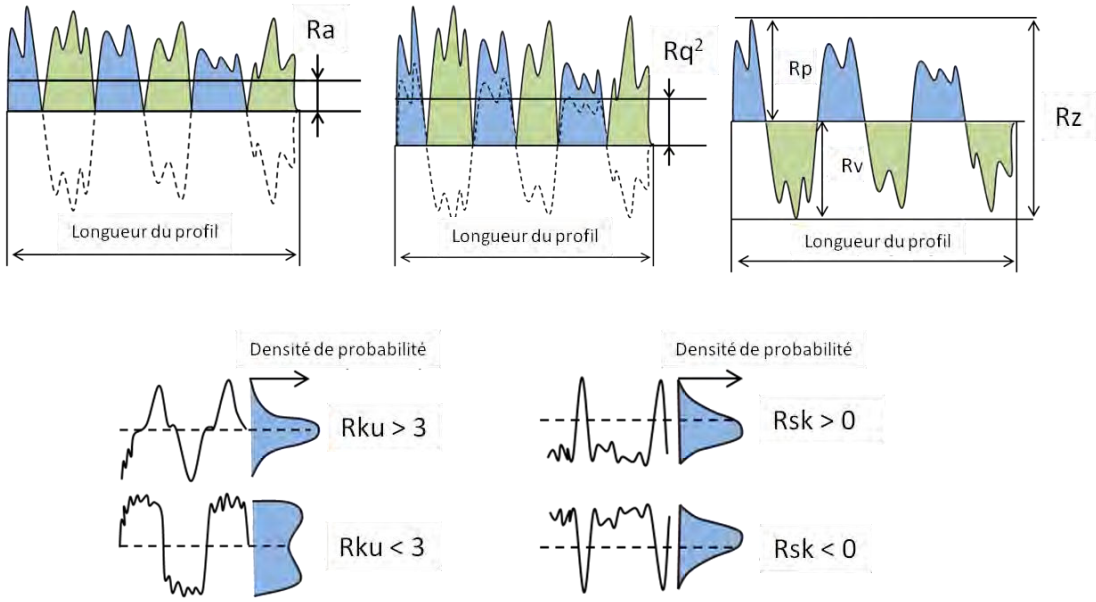


Figure I-10 : Schéma représentant les différents paramètres de rugosité (Ra, Rq^2, Rz, Rku et Rsk) sur un profil de surface

Tableau I-4 : Formules permettant de calculer les différents paramètres de rugosité pour une surface

Paramètre	Formule
Sa	$Sa = \frac{1}{A}\iint_A \lvert Z(x,y)\rvert dxdy$
Sq	$Sq = \sqrt{\frac{1}{A}\iint_A Z(x,y)^2 dxdy}$
Sz	Sz = Sp + Sv
Sku	$Sku = \frac{1}{S_q^4}\left[\frac{1}{A}\iint_A Z(x,y)^4 dxdy\right]$
Ssk	$Ssk = \frac{1}{S_q^3}\left[\frac{1}{A}\iint_A Z(x,y)^3 dxdy\right]$

Un grand nombre d'études expérimentales a démontré que la réponse osseuse est influencée par la topographie de surface de l'implant et qu'une excellente corrélation linéaire peut exister entre la rugosité de la surface et la qualité de l'interface os-implant [50]. Cette adhérence est généralement caractérisée par la mesure du couple qu'il faut appliquer pour retirer l'implant de l'os et est généralement appelée couple de retrait.

D'après *Wenneberg et Albrektsson*, la topographie de la surface à un niveau micrométrique influence la réponse osseuse : les surfaces lisses (Ra < 0,5 µm) et très peu rugueuses (0,5 < Ra < 1 µm)

montrent une moins bonne réponse osseuse que celles davantage rugueuses [51]. Les surfaces moyennement rugueuses (1 < Ra < 2 µm) montrent, quant à elles, une meilleure réponse osseuse que les surfaces très rugueuses. De plus, une surface de contact os-implant plus élevée est observée après 4 semaines pour un implant sablé avec des particules de 25 µm de diamètre menant à une rugosité inférieure que ceux sablés avec des particules de 250 µm de diamètre. Ce résultat indique qu'une rugosité de surface élevée est un désavantage à court terme pour les tissus osseux comparée à celle moyennement rugueuse [52]. Aussi, la meilleure réponse osseuse en terme de couple de retrait maximum et de surface de contact os-implant maximale a été observée pour une surface ayant une rugosité moyenne (Sa) égale à 1,5 µm et une augmentation de surface exposée os/implant de 50 % entre la surface de départ (usinée) et celle finale (sablée mordancée) [51].

De plus, une valeur de rugosité moyenne comprise entre 1 et 2 µm n'est pas le seul critère pour une ostéointégration maximale mais, le profil, la distribution et l'espacement entre les pics ainsi que l'aire des pics et des vallées influencent significativement l'ancrage mécanique de la surface de l'implant [50]. En effet, si la surface en contact avec l'os est plus élevée pour des paramètres de rugosité fixés, cela permet de solidifier l'interface. Il a été reporté que parmi les paramètres de rugosité mesurés, l'aire de pics (A1) et l'aire des vallées (A2) présentent la meilleure corrélation avec le couple de retrait [53]. Effectivement, lorsque A1 et A2 augmentent, le couple de retrait augmente (Tableau I-5) [50]. De plus, une fixation osseuse plus stable, impliquant un couple de retrait et une surface de contact os-implant plus élevés, a été observée pour deux surfaces sablées ayant une rugosité de 1,16 et 1,94 µm et une distance moyenne entre pics de 10,00 µm et 13,22 µm respectivement que pour une surface usinée ayant une rugosité de 0,96 µm et une distance moyenne entre pics de 8,6 µm après un an dans un os de lapin [54].

Les interactions théoriques entre l'os et la surface de l'implant ont été décrites par *Hansson et Norton* [55]. Ceux-ci définissent mathématiquement le rôle de la rugosité de surface à l'échelle micrométrique. Le résultat de ces simulations de l'effet de la texturation de surface montre que celle-ci devrait être couverte densément avec des puits représentés par des demi-sphères de profondeur de 1,5 µm et de diamètre compris entre 3 et 5 µm. Ces calculs s'appuient sur des données collectées pour des séries d'études sur les effets de la topographie de l'implant sur le contact os-implant. Cette simulation valide également les résultats obtenus lors des essais expérimentaux décrits précédemment.

Abron et al. ont montré que la morphologie de pores idéaux, supportant une formation osseuse largement plus importante à l'interface de l'implant dans un tibia de rat, peut être obtenue par le sablage avec des particules d'alumine de granulométrie égale à 50 µm à 20 psi pendant 60 secondes puis en réalisant une attaque acide à l'aide d'acide chlorhydrique à 6,4 mol/L pendant 22 à

24 heures à température ambiante [56]. La surface résultant de ces traitements peut être décrite par : Ra = 0,78 ± 0,06 µm; Rz = 5,26 ± 0,56 µm ; Aire = 3529 ± 277 μm^2.

Le profil de surface au rang nanométrique semble aussi jouer un rôle important sur l'adsorption des protéines, l'adhésion des cellules ostéoblastiques et donc sur la vitesse d'ostéointégration. Cependant, de telles surfaces sont difficiles à obtenir de manière reproductibles avec les traitements chimiques actuels [49]. Les techniques laser sont plus efficaces afin d'obtenir des nano-rugosités mieux contrôlées et définies mais sont plus coûteuses et restent compliquées à mettre en œuvre sur des formes complexes comme les implants dentaires. Il serait donc intéressant d'améliorer les techniques chimiques.

Les résultats à propos de l'ostéointégration peuvent être expliqués par l'expression des gènes ostéoblastiques et la minéralisation qui sont affectées par la microtopographie de surface créé sur les implants dentaires. *Schneider et al.* ont montré que la différence de rugosité à la surface d'implants peut altérer l'expression des gènes régulant l'ostéogenèse tels que Cbfa1 *(Core-binding factor alpha 1)* et BSPII *(bone sialoprotein 2*) [57]. A noter que les surfaces microtexturées favorisent une cicatrisation précoce et que l'on peut s'attendre à ce que de nombreuses surfaces différentes retiennent efficacement la fibrine pendant le stade critique de migration des cellules ostéogéniques lors de l'ostéoconduction.

Tableau I-5 : Moyenne et écart-type des paramètres de rugosité de disques de titane ayant subi des traitements de surface différents et couples de retrait associés [53]

Traitements reçus	Ra (µm)	A1 (μm^2)	A2 (μm^2)	Couple de retrait (N.cm)
Usiné	0,65 ± 0,11	21,71 ± 5,42	10,66 ± 16,20	57,0 ± 18,6
Mordancé	0,51 ± 0,10	34,76 ± 7,35	103,86 ± 14,80	75,45 ± 10,5
Sablé	0,75 ± 0,05	99,75 ± 6,76	190,13 ± 4,90	72,15 ± 14,9
Anodisé	0,87 ± 0,14	97,67 ± 11,43	215,37 ± 1,67	83,15 ± 12,7

Il est alors possible d'observer que la mesure d'un seul paramètre tel que la rugosité moyenne arithmétique (Ra) semble difficile afin de décrire une surface optimale favorisant l'ostéointégration. En effet une surface présentant une rugosité moyenne arithmétique comprise entre 1 et 2 µm semble être optimale pour *Wenneberg et Albrektsson* [51] alors *qu'Elias et al.* décrivent un couple de retrait maximum pour une surface présentant une rugosité moyenne de 0,87 µm mais possédant une surface de contact avec l'os élevée. Il est alors difficile de conclure sur la topographie optimale requise permettant de favoriser l'ostéointégration des implants dentaires car les études ne décrivent pas les mêmes paramètres de rugosité ou ne les mesurent pas avec les

mêmes outils. Une rugosité moyenne arithmétique comprise entre 1 et 2 µm ainsi qu'une surface exposée importante peuvent néanmoins être considérées comme des paramètres favorisant l'ostéointégration des implants dentaires.

I-3-2 *Propriété physico-chimique : la mouillabilité*

La mouillabilité de l'implant dentaire vis-à-vis des fluides biologiques semble être un facteur important car elle détermine la facilité du sang à aller au contact de l'implant après la chirurgie et donc de procéder à la cicatrisation et à la reconstruction osseuse. Les surfaces hydrophiles semblent plus souhaitables que les surfaces hydrophobes pour l'ostéointégration grâce à leur interactions favorables avec les fluides biologiques, les cellules et les tissus [49]. De plus, l'expression des facteurs de croissance spécifiques aux ostéoblastes est plus importante sur les surfaces hydrophiles que sur celles hydrophobes [58]. Des études examinant la réponse des ostéoblastes à la chimie contrôlée des surfaces indiquent que les surfaces hydrophiles sont ostéogéniques [59]. Cependant, *Albrektsson et al.* n'ont pas réussi à démontrer une meilleure ostéointégration sur des implants dentaires ayant une surface hydrophile [49].

Les surfaces composées de TiO_2 produites jusqu'à maintenant montrent une énergie de surface faible à cause de composés carbonés venant de l'air ambiant adsorbés à leur surface [59]. Cette hydrophobicité peut aussi être induite par la rugosité.

Cependant, de nouvelles surfaces de titane hydroxylées ou hydratées ont été élaborées pour conserver une énergie de surface importante. Par exemple, un fabriquant d'implants dentaires a développé une surface hydrophile en rinçant leur implant avec une solution de chlorure de sodium sous protection d'azote et en le stockant directement dans une solution de chlorure de sodium isotonique afin de préserver l'hydrophilicité de sa surface jusqu'à l'implantation. Ce nouveau procédé permet en effet d'améliorer la mouillabilité de la surface ; représentée par un angle de contact faible (Tableau I-6) [59]. Cette surface hydrophile, appelée ModSLA® ou SLActive®, permettrait de réduire les délais de cicatrisation à 3-4 semaines [43].

De nombreuses études ont donc été menées sur cette nouvelle surface et les résultats montrent que durant la phase initiale de la cicatrisation osseuse (jusqu'à 8 semaines), la surface ModSLA® améliore la résistance au cisaillement à l'interface os-implant en comparaison avec les surfaces SLA® conventionnelles. En effet, les valeurs du couple de retrait des implants à surface

ModSLA® sont de 8 à 21 % plus importantes que celles pour les implants SLA® classiques [60]. Il a été démontré que les différences dans l'expression des gènes fonctionnellement pertinents commencent à être significatives au bout de 7 jours avec la surface ModSLA® caractérisée par une réponse régénérative positive (ostéogenèse, angiogenèse et neurogenèse améliorées). Ces résultats sont cohérents avec les observations histologiques réalisées sur un modèle humain [16] et peuvent être reliés aux propriétés ostéointégratrices supérieures observées pour ces surfaces [61]. De plus, les ostéoblastes cultivés sur cette surface hydrophile présentent un phénotype plus différencié, caractérisé par une activité de la phosphatase alcaline et de l'ostéocalcine trois fois supérieure sur ces surfaces hydrophiles que sur les surfaces conventionnelles [59]. Cela suggère que l'augmentation de la formation osseuse observée *in vivo* sur les surfaces ModSLA® est due en partie aux effets stimulants d'une importante mouillabilité sur les ostéoblastes [14]. Par conséquent, l'hydrophilicité de surface peut favoriser la minéralisation osseuse, contribuant potentiellement à une ostéointégration plus rapide.

Il faut noter que les procédures de stérilisation doivent être choisies avec soin car elles peuvent également modifier la composition chimique de surface. L'autoclavage à la vapeur et l'irradiation gamma diminuent l'énergie de surface car les hydrocarbures environnementaux réagissent avec les groupes chimiques de surface activés par ces méthodes de stérilisation. Contrairement à cela, le nettoyage au plasma élimine les contaminants et augmente l'énergie de surface de manière significative [59].

Tableau I-6 : Moyenne et écart-type de la rugosité moyenne d'implants ayant subis des traitements de surface différents et angle de contact associés [49]

Type d'implant	Ra (µm)	Angle de contact (°)
Titane pur	0,22 ± 0,01	55 ± 4
Sablé mordançé (SLA®)	1,15 ± 0,05	138 ± 4
Sablé mordancé modifié (ModSLA®)	1,16 ± 0,04	0

En conclusion, la topographie et la physico-chimie de la surface jouent un rôle important sur l'ostéointégration et donc sur la cicatrisation osseuse précoce. Une surface optimale doit alors être atteinte. Il faut cependant être attentif au fait qu'il est très difficile de dissocier l'effet de la rugosité et de la mouillabilité sur l'ostéointégration car ces deux caractéristiques sont étroitement liées.

I-3-3 *Propriétés mécaniques : la résistance à la corrosion*

L'implant étant en contact direct avec les fluides biologiques, il doit posséder une résistance à la corrosion au sein de ce milieu. En effet, le plasma sanguin est en contact avec l'implant après l'acte chirurgical. La composition du plasma sanguin est reportée dans le Tableau I-7. La composition en ions inorganiques est la même pour les autres fluides biologiques ; en revanche, la concentration en protéines est plus importante dans le plasma sanguin. Pour ces fluides extracellulaires, les composés inorganiques sont caractérisés par une concentration importante en ions sodium et chlorure [62]. Ces fluides sont aussi oxygénés et leur pH est de 7,4 pour une température de 37 °C. Après chirurgie, le pH peut augmenter jusqu'à 7,8 ou diminuer jusqu'à 5,5 avant de se stabiliser à 7,4 après quelques semaines. Des infections ou des hématomes peuvent également causer une variation du pH allant de 4 à 9 [63]. Ces conditions notamment de pH couplées à des contraintes mécaniques plus ou moins élevées constituent un environement propice à la corrosion de l'implant.

La corrosion des implants métalliques est critique car ce phénomène peut modifier la biocompatibilité ainsi que les propriétés mécaniques du matériau pouvant mener à la fracture de l'implant [63]. La corrosion peut par exemple engendrer le relargage d'ions provenant du matériau constitutif de l'implant dans les fluides biologiques. Certains ions sont connus pour leur toxicité et doivent alors être prohibés. Il faut donc éviter au maximum le relargage d'ions dû à la corrosion afin d'être certain de la biocompatibilité de l'implant à long terme.

Les métaux utilisés dans le corps humain doivent donc avoir une haute résistance à la corrosion et doivent être utilisés dans les conditions appropriées qui ne conduisent pas à la dégradation de cette propriété de résistance à la corrosion. Les métaux et alliages utilisés en implantologie se passivent et sont considérés comme résistants à la corrosion grâce à la présence de cette couche protectrice d'oxyde qui inhibe la corrosion en maintenant les relargages de produits de corrosion à un niveau bas.

Le rôle protecteur de ces couches est essentiellement lié à la présence de certains éléments chimiques. Par exemple pour les trois métaux les plus utilisés en implantologie orale à savoir l'acier inoxydable, les alliages de chrome-cobalt et les alliages de titane c'est l'oxyde de chrome qui permet la résistance à la corrosion de l'acier inoxydable et des alliages de chrome cobalt alors que c'est l'oxyde de titane pour les alliages de titane. De plus, d'autres paramètres tels que la composition, les changements métallographiques suite à des traitements thermiques, les phases microstructurales présentes et la finition de surface, peuvent influencer la résistance à la corrosion d'un matériau.

Concernant les aciers inoxydables et plus particulièrement le 316L qui est le plus couramment utilisé, une quantité minimum de chrome de 16 % est ajoutée afin de garantir cette

résistance à la corrosion. 2 à 3 % de molybdène peuvent également être ajoutés afin de renforcer la couche protectrice dans les environnements acides et salins et d'augmenter la résistance à la corrosion par piqûre. De plus le pourcentage en carbone ne doit pas excéder 0,08 % car la résistance à la corrosion est maximale lorsque le carbone est en solution solide c'est-à-dire quand la structure est composée d'une seule phase homogène. En effet, il ne faut pas former de carbures de chrome aux joints de grain car cela peut entrainer de la corrosion intergranulaire. La technique de mise en forme de l'acier ainsi que les traitements thermiques qu'il subit sont donc très importants. De plus, la résistance à la corrosion peut être augmentée par électropolissage de la surface qui permet d'obtenir une surface plus uniforme. L'acier inoxydable est le matériau ayant la moins bonne résistance à la corrosion dans les fluides biologiques comparés aux deux autres cités ci-dessous.

De la même manière que pour l'acier inoxydable, il faut éviter la formation de carbure de chrome au sein des alliages de chrome-cobalt afin d'accentuer leur résistance à la corrosion. Une attention particulière est alors portée à la technique de mise en forme employée ainsi qu'aux post traitements réalisés.

Le titane ainsi que ses alliages résistent à la corrosion grâce à la formation en surface d'une couche d'oxyde de titane. Le titane est un des métaux les plus réactifs : une couche d'oxyde de quelques nanomètres se forme quasi-instantanément lorsque celui-ci est au contact de l'air ou de l'eau. Cette couche d'oxyde croit naturellement jusqu'à atteindre une épaisseur de 25 nm après 4 ans. Lors de la formation de film protecteur d'oxyde TiO_2, l'interface TiO_2/Ti a un ratio de concentration O/Ti qui varie graduellement de 2/1 du film d'oxyde vers un ratio beaucoup plus faible dans le volume [31]. Tout ce qui détériore cette couche entraine la corrosion du titane. Au contraire, tout ce qui permet de conserver ou reformer cette couche est bénéfique à la résistance en corrosion. Cette couche est stable en milieu aqueux d'un pH 4 à 12 [19].

Tableau I-7 : Composition du plasma sanguin [62]

Ions inorganiques	mg/100 mL	Composés organiques non protéiques	mg/100 mL	Protéines principales	mg/100 mL
Na^+	327	**Urée**	25	**Albumine**	3650
K^+	13	**Acide urique**	4	**Globuline**	3250
Ca^{2+}	10	**Glucides**	260	**Fibrinogène**	300
Mg^{2+}	2	**Acides organiques**	19		
Cl^-	372	**Lipides**	530		
HCO_3^-	165	**Acides gras**	325		
PO_4^{3-}	20	**Acides aminés**	50		
SO_4^{2-}	10				

I-4. Les traitements de surface

Nous avons pu voir précédemment que le titane ainsi que ses alliages sont très utilisés dans la fabrication des implants dentaires grâce à la combinaison de leurs propriétés mécaniques adaptées, leur biocompatibilité et leur stabilité chimique dans les fluides biologiques.

De plus, des études ont montré que la forme mais surtout la surface de l'implant jouent un rôle important sur l'ostéointégration. En effet, la surface de l'implant doit être adaptée afin d'assurer un bon ancrage mécanique de l'implant dans l'os et favoriser au maximum sa stabilité. De plus, cette surface doit permettre d'aider la reconstruction osseuse. Pour cela, il a été démontré que la rugosité ainsi que la mouillabilité de surface sont deux paramètres déterminants. En effet comme explicité précédemment, une surface présentant une rugosité comprise entre 1 et 2 µm et étant hydrophile permet de favoriser l'ostéointégration. Dans ce but, différents traitements de surface ont alors été développés. On peut citer les méthodes suivantes : le sablage, les attaques acides ou alcalines, l'anodisation et le traitement laser [49], [64].

Dans cette partie, l'étape d'usinage de l'implant ainsi que les procédés de sablage et d'attaque acide seront exposés.

I-4-1 L'usinage

La surface usinée qui fut utilisée par Brånemark lorsque celui-ci définit l'ostéointégration est présentée sur la Figure I-11. Celle-ci présente un aspect relativement lisse ayant une rugosité moyenne comprise entre 0,1 et 0,3 µm et recouverte d'une couche passive d'oxyde de titane TiO_2 généralement amorphe de 2 à 10 nm d'épaisseur [64]. De plus, la topographie de cette surface est anisotropique à cause des marques créées par l'outil de la machine d'usinage [53].

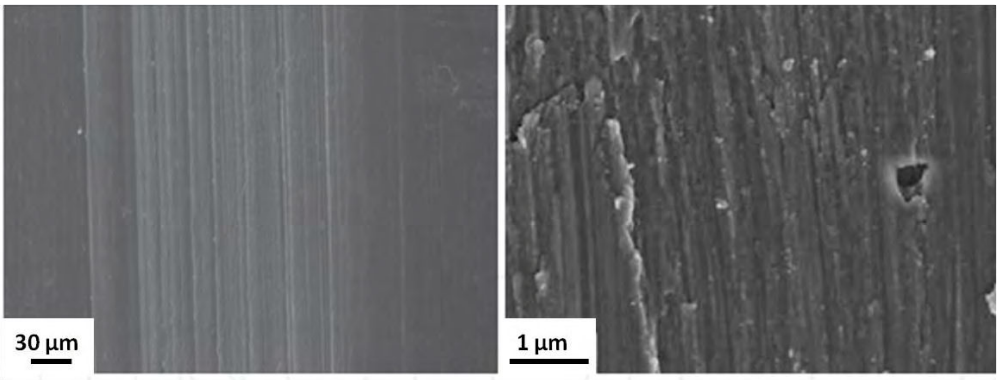


Figure I-11 : Micrographies réalisées au Microscope Electronique à Balayage (MEB) (faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite) d'une surface de titane usinée [64]

I-4-2 Le sablage

Cette méthode de traitement de surface consiste à projeter des particules dures et abrasives sur la surface de l'implant, plus ductile, à l'aide d'un gaz vecteur, couramment d'air comprimé, grâce à une buse. Cela permet d'enlever de la matière à la surface de l'implant et de déformer celle-ci afin de créer une rugosité (Figure I-12).

En cas de pollution éventuelle, les particules utilisées pour le sablage doivent être stables chimiquement, biocompatibles et ne pas entraver l'ostéointégration [49]. Les particules employées sont l'oxyde de titane, l'alumine, la zircone et les phosphates de calcium les plus durs tels que l'hydroxyapatite (HA) ou le phosphate tricalcique béta (β-TCP) ou bien un mélange des deux [65]. Même si l'alumine reste la plus utilisée dans le milieu industriel, l'oxyde de titane et les phosphates de calcium sont préférables grâce à leur plus grande biocompatibilité. Néanmoins, ces particules étant moins dures que l'alumine, elles conduisent à une rugosité plus faible. Les phosphates de calcium semblent réellement être un matériau de choix car ils sont biocompatibles et ostéoconducteurs. De plus, ces particules peuvent être facilement dissoutes à l'aide de solutions acides faiblement concentrées menant alors à une surface propre sans résidus de particules de sablage [49].

La rugosité de surface dépend alors du matériau sur lequel les particules sont projetées, du matériau constituant les particules de sablage ainsi que de leur taille et distribution en taille, leur forme, la vitesse à laquelle elles sont envoyées et la densité de particules projetées [31], [64], [65].

La rugosité de surface obtenue augmente avec la taille des particules de sablage et une rugosité moyenne arithmétique comprise entre 0,5 et 2 µm peut être atteinte [64]. Des rugosités bien supérieures (2-6 µm) ont également été obtenues. L'alumine, étant plus dure, mène à une rugosité de surface plus importante [31]. *Pawlowski* rapporte aussi que la rugosité diminue avec l'augmentation du module de Young du substrat, que la rugosité croit avec la pression de sablage pouvant être expliqué par une augmentation du débit des particules de sablage et que la distance substrat/buse ne semble pas avoir une grande influence sur la rugosité finalement obtenue [66]. Le sablage peut également induire une déformation de l'extrême surface entrainant des contraintes résiduelles mécaniques à la surface de l'implant [67], [68]. Ces contraintes de compression, environ égales à 480 MPa d'après *Jiang et al* après un sablage avec des particules de SiO_2 de 200- 300 µm de diamètre et avec une pression de 300 psi (pound per square inch, équivalent à environ 20,6 bars), permettraient d'augmenter la résistance en fatigue du matériau de 11 % par rapport à un titane pur non sablé [69].

Il faut noter que les particules de sablage peuvent néanmoins rester incrustées dans le matériau sablé et stérilisé même après nettoyage aux ultrasons [64]. L'alumine restant enchâssée dans l'implant peut parfois couvrir 20 à 30 % de sa surface [31]. Certains auteurs rapportent que ces particules se sont détachées du substrat et ont interféré avec l'ostéointégration des implants [49]. De plus, cette hétérogénéité chimique à la surface de l'implant peut diminuer sa forte résistance à la corrosion dans le milieu physiologique. Cependant *Piattelli et al.* montrent que l'alumine n'influe en rien sur l'ostéointégration [70].

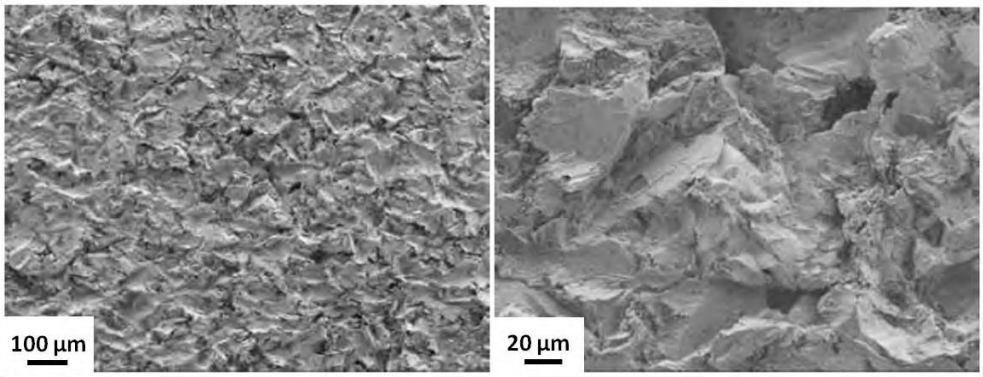


Figure I-12 : Micrographies MEB (faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite) d'une surface de titane sablée [64]

I-4-3 Le mordançage

Le mordançage, ou attaque acide, consiste à corroder la surface de l'implant à l'aide d'acides forts. Cela permet la formation de petits puits grâce à l'élimination de grains et de joints de grains à la surface de l'implant. Certaines phases et impuretés sont également attaquées préférentiellement [64]. Cela engendre donc la création d'une rugosité de surface (Figure I-13).

Les principaux acides utilisés sont l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide sulfurique (H_2SO_4), l'acide nitrique (HNO_3) et l'acide fluorhydrique (HF); ce dernier étant le plus efficace [67]. Généralement, ce sont des mélanges d'acides qui sont employés : couramment le mélange HCl / H_2SO_4 mis en oeuvre en température (50 - 100 °C) et le mélange HNO_3/HF [49]. L'HF dissout le dioxyde de titane puis réagit avec le titane et forme un mélange d'hydrogène et de fluorure de titane (TiF_4) sous forme soluble [71]. Aussi, il a été constaté que des mordançages successifs utilisant deux acides différents améliorent le processus d'ostéoconduction grâce à la fixation de la fibrine et des cellules ostéogéniques [71].

La rugosité résultante de ce traitement dépend du matériau traité, de sa microstructure et de la rugosité initiale de sa surface, de ou des acide(s) utilisé(s) ainsi que de la température et du temps d'immersion [31], [64].

La taille des pores créés par l'attaque acide varie entre 1 et 2 µm de profondeur et de 0,5 à 2 µm de diamètre visant une rugosité moyenne (Ra) allant de 0,3 à 1 µm [31][49]. D'après *Ballo et al.* un oxyde amorphe d'une épaisseur d'environ 10 nm est créé par le mordançage [64]. De plus, l'utilisation de l'acide fluorhydrique permet une incorporation de l'élément fluor dans le substrat de titane, décrit comme favorable pour l'ostéointégration des implants dentaires par *Le Guéhennec et al.* [49]. *Ban et al.* ont étudié l'attaque de l'acide sulfurique (48 %) sur le titane pur (cpTi) et ont montré que plus le temps est long (de 0,25 à 8 h) et la température de traitement élevée (de la température ambiante à 90 °C), plus la surface est attaquée engendrant une augmentation des paramètres de rugosité ainsi qu'une perte de masse [72]. Par exemple, pour une température de 40 °C, une rugosité moyenne (Ra) d'environ 0,5 µm, similaire à celle de la surface usinée, est mesurée jusqu'à 1 h d'attaque puis augmente à 1,25 µm après 3 h puis à 1,90 µm après 8 h d'immersion. Cette augmentation de la rugosité est reliée à une perte de masse. Celle-ci est nulle après 1 h d'attaque puis de 1,30 mg/cm^2 après 3 h d'attaque et de 1,7 mg/cm^2 après 8 h.

Néanmoins, une attention particulière doit être portée à la fragilisation par hydrogène du titane décrite par de nombreux auteurs. Celle-ci provient du dégagement de dihydrogène qui se produit lors des réactions mises en jeu entre les acides et le titane et des ions hydrogène contenus dans les acides [64]. En effet, cette fragilisation peut engendrer des micro-fissures à la surface de l'implant, diminuant alors sa tenue en fatigue et réduisant la ductilité du titane [49]. Une couche hybride de TiH_2, disparaissant après traitement thermique [67], a été décrite et *Iwaya et al.* proposent, dans le cas de l'acide sulfurique, les réactions suivantes pour expliquer sa formation [68] :

$$TiO_2 + 2\ H_2SO_4 \rightarrow Ti(SO_4)_2 + 2\ H_2O \qquad (I.1)$$

$$Ti + 2\ H_2SO_4 \rightarrow Ti(SO_4)_2 + 2\ H_2\uparrow \qquad (I.2)$$

$$Ti + H_2 \rightarrow TiH_2 \qquad (I.3)$$

Un rapport entre les proportions d'acides nitrique et fluorhydrique de 1 à 10 permettrait de minimiser la formation d'hydrogène libre et donc un mélange se composant de 10 à 30 % en volume d'HNO_3, de 1 à 3 % en volume d'HF et d'eau distillée semble souhaitable d'après *Mousa* [71].

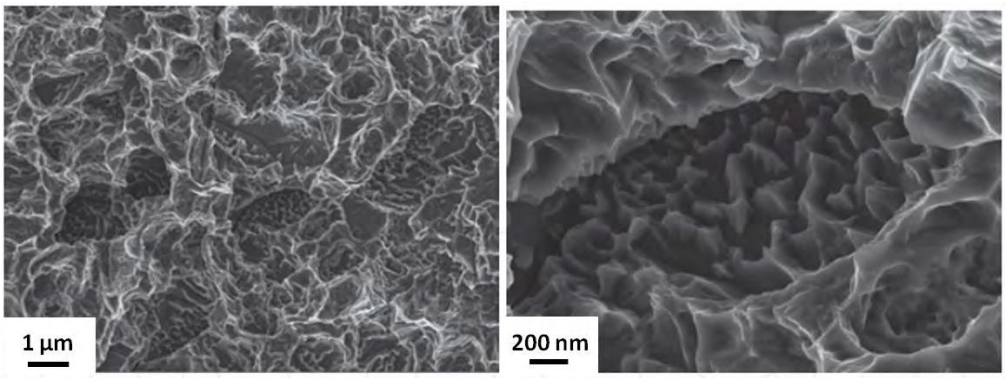


Figure I-13 : Micrographies MEB d'une surface de titane mordancée (faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite) [64]

I-4-4 *Les surfaces sablées et mordancées*

La surface des implants dentaires les plus commercialisés combine généralement les deux techniques citées précédemment à savoir une étape de sablage suivie d'une étape de mordançage. L'attaque acide permet en effet d'éliminer les particules de sablage enchâssées dans le titane et permet également une texturation de la surface grâce à la création de micropores [31], [64]. Ces traitements permettent donc d'obtenir la superposition de la rugosité créée par l'attaque acide à celle créée par le sablage. L'attaque acide réduit également la hauteur des pics en les arrondissant, menant à une rugosité moyenne (Sa) de surface plus faible comprise entre 1 et 2 µm. La couche de TiH_2 précédemment discutée, d'une épaisseur variant de 1 à 2 µm, semble être présente entre le substrat de titane métallique et son oxyde [64]. Un exemple de topographie de surface obtenue après ces deux traitements est présenté sur la Figure I-14. Enfin, des essais *in vivo* ont démontré que ces surfaces doublement traitées mènent à une meilleure ostéointégration, traduit par un couple de retrait et une surface de contact implant/os plus élevés, par rapport à des surfaces uniquement mordancées ou uniquement sablées [64].

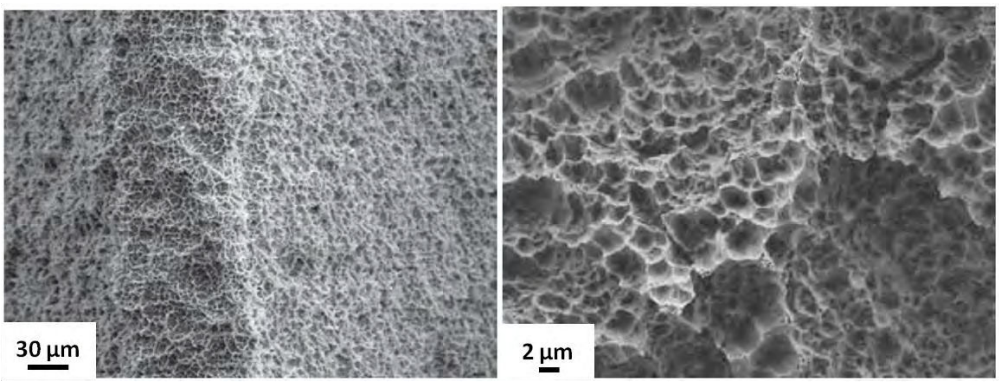


Figure I-14 : Micrographies MEB d'une surface de titane sablée mordancée (faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite) [64]

I-5. Les revêtements de phosphate de calcium

Il a pu être observé dans la partie précédente que les traitements de surface des implants en titane ont été optimisés dans le but d'améliorer l'ancrage mécanique des implants et d'optimiser leur rugosité et mouillabilité de surface et donc de favoriser leur ostéointégration. Cependant, la composition chimique de la surface des implants en titane, considérée comme inerte dans les fluides biologiques par la présence de TiO_2, rend l'implant passif d'un point de vue chimique lors de l'ostéointégration. C'est la raison pour laquelle l'utilisation des phosphates de calcium (CaP), matériaux dont la composition voir la structure se rapprochent de celles du minéral osseux, a été développée. En effet, ces matériaux permettent, via leur résorption, d'initier la germination des phosphates de calcium composant le minéral osseux à partir des fluides biologiques [73] et favorisent donc la reconstruction osseuse. Ils peuvent également être considérés comme angiogéniques [74]. Néanmoins, les propriétés mécaniques de ces matériaux ne sont pas adaptées aux contraintes subies par un implant. L'idée a donc été de combiner les avantages du titane, ayant de bonnes propriétés mécaniques, et des phosphates de calcium pour leur bioactivité, en recouvrant l'implant en titane par des phosphates de calcium.

Pour cela différents procédés ont été envisagés incluant la projection plasma, largement utilisée dans l'industrie pour revêtir les implants orthopédiques. D'autres techniques telles que l'électrodéposition, la voie sol-gel, les procédés de dépôt chimique ou physique en phase vapeur, les immersions,… ont également été étudiées [75]–[78] .

Dans notre étude, nous nous sommes intéresserés uniquement aux procédés opérant à basse température et par voie liquide et plus particulièrement à l'électrodéposition ainsi qu'à la méthode d'immersion qui seront décrites par la suite. Ces procédés permettent de revêtir des formes complexes comme les implants dentaires et de former des phases de phosphate de calcium réactives et solubles. Nous commencerons ici par la description des phases de phosphate de calcium d'intérêt avant de présenter les deux procédés de revêtement qui ont été mis en œuvre dans le cadre de ce travail de thèse.

I-5-1 Les phosphates de calcium

I-5-1-a. Généralités

Les phosphates de calcium (CaP) constituent une famille de composés issus de la combinaison des différentes formes acides de l'acide phosphorique H_3PO_4 à savoir $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} et PO_4^{3-} avec l'ion calcium. D'autres éléments ou groupements ioniques comme par exemple le cuivre, le zinc, le chlore, le fluor, les silicates, les carbonates, etc. peuvent également être insérés dans la

maille cristalline de certains phosphates de calcium afin de modifier leurs propriétés physico-chimiques ou biologiques. Les phosphates de calcium sont généralement identifiés grâce à leur rapport atomique Ca/P. Le Tableau I-8 présente les principales phases phosphocalciques utilisées pour la conception de biomatériaux ainsi que leurs noms, formules chimiques, rapports atomiques Ca/P et produits de solubilité. La solubilité de ces matériaux est également dépendante du pH et de la température du milieu auquel ils sont exposés ; comme présenté à la Figure I-15 pour une température de 37 °C. Nous limiterons la présentation, dans la suite, aux phosphates de calcium susceptibles d'être formés à basse température et par voie humide, en accord avec les procédés qui ont été mis en œuvre dans ces travaux de thèse. Le phosphate dicalcique dihydraté (DCPD) autrement dit brushite, le phosphate octocalcique (OCP), le phosphate tricalcique amorphe (ACP), l'hydroxyapatite (HAP) et plus particulièrement les apatites non stœchiométriques (ns-HAP) seront décrits par la suite. Les phosphates monocalciques (MCPM et MCPA) peuvent également être formés à basse température dans un milieu acide car ils contiennent des ions $H_2PO_4^-$ [79]. Les études ont néanmoins montré qu'un phosphate de calcium ayant un rapport Ca/P < 1 n'était pas souhaitable pour implantation [80].

Tableau I-8 : Noms, abréviations, formules chimiques, rapports atomiques Ca/P et produits de solubilité (à 25 °C) des différentes phases de phosphates de calcium utilisés comme biomatériaux

Nom	Abréviation	Formule	Rapport Ca/P	- log K_{sp} à 25°C**
Phosphate monocalcique monohydraté	MCPM	$Ca(H_2PO_4)_2, H_2O$	0,5	
Phosphate monocalcique anhydre	MCPA	$Ca(H_2PO_4)_2$	0,5	
Phosphate dicalcique dihydraté	DCPD (brushite)	$CaHPO_4, 2H_2O$	1	6,69
Phosphate dicalcique anhydre	DCPA (monétite)	$CaHPO_4$	1	6,90
Phosphate octocalcique*	OCP	$Ca_8(PO_4)_4(HPO_4)_2, 5H_2O$	1,33	96,16
Phosphate tricalcique amorphe	ACP	$Ca_3(PO_4)_2, nH_2O$	1,5	
Phosphate tricalcique β	β-TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	1,5	28,9
Phosphate tricalcique α	α-TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	1,5	25,5
Hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique	HAP	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1,67	116,8
Apatite non stœchiométrique	ns-HAP	$Ca_{10-x}(PO_4)_{6-x}(HPO_4,CO_3)x(OH)_{2-x}$	1,34 - 1,66	
Phosphate tétracalcique	TTCP	$Ca_4(PO_4)_2O$	2	38

* d'autres formes de phosphate octocalcique existent (amorphe, apatitique)

** K_{sp}, le produit de solubilité, représente la constante d'équilibre de dissociation d'un composé ionique. Lorsque sa valeur est très faible, le $pK_{sp} = -\log(K_{sp})$ est utilisé.

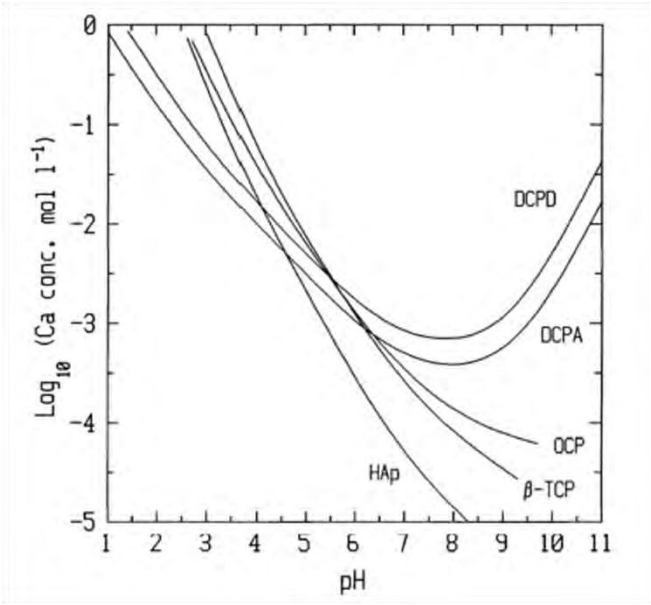


Figure I-15 : Isothermes de solubilité des différents phosphates de calcium dans le système $Ca(OH)_2$-H_3PO_4-H_2O à 37 °C calculés avec le programme RAMESES [79]

I-5-1-b. Les phosphates dicalciques (DCPD et DCPA)

La neutralisation des deux premières acidités de l'acide phosphorique, présentes à un pH compris entre 3 et 4, avec de l'hydroxyde de calcium conduit aux phosphates dicalciques. Des phases obtenues à basse température, ce sont les seules à avoir un rapport Ca/P fixe et égal à 1 [73]. Nous pouvons distinguer le phosphate dicalcique dihydraté (DCPD) du phosphate dicalcique anhydre (DCPA). Le DCPA peut être obtenu en traitant thermiquement le DCPD à 180 °C ou bien par précipitation directe à une température d'environ 60 °C dans des solutions acides. Le DCPA ne semble néanmoins pas être présent dans des calcifications normale ou pathologique. Ce composé, moins soluble que le DCPD sous conditions normales de température et de pression, devrait pourtant être plus présent que ce dernier. Cependant, il possède une vitesse de croissance cristalline inférieure à celle du DCPD ; c'est donc la cinétique qui l'emporte sur la stabilité thermodynamique [79]. Nous nous intéresserons donc principalement à la brushite qui est décrite comme une phase intermédiaire à la formation de phosphate octocalcique (OCP) et d'apatite (HAP ou ns-HAP). En effet, l'hydrolyse du DCPD vers l'OCP se produit à pH compris entre 6,2 et 7,4 et pour une température faible (25-37 °C) alors que pour des pH et des températures plus élevés des phases apatitiques sont généralement formées [79]. Certains auteurs suggèrent qu'une fois immergé dans les fluides biologiques, le DCPD est dissout puis les ions en solution reprécipitent en phosphate amorphe (ACP) qui cristallise ensuite sous forme d'OCP pour se convertir alors en apatite [81]. Ces phases transitoires ne sont pas toujours mises en évidence et un passage direct vers l'apatite est parfois observé.

I-5-1-c. Le phosphate octocalcique (OCP)

L'OCP contient à la fois des ions HPO_4^{2-} et PO_4^{3-}. Cette phase peut être obtenue par hydrolyse de la brushite ou par précipitation par double décomposition entre une solution de calcium et une solution de phosphate à température modérée et à pH légèrement acide [73]. L'OCP est considéré, à l'instar du DCPD, comme une phase intermédiaire de la formation de l'HAP ou de la ns-HAP car cette phase germe et croit plus facilement que ces dernières [79]. En effet, la présence d'ions OH^-, parfois observables dans l'OCP, traduit un début d'hydrolyse en apatite mais pas la formation d'une nouvelle phase ; il y a formation d'intercouches entre OCP et apatite [73]. Ceci est d'autant plus probable que la structure cristallographique de l'OCP et de l'HAP sont proches même si une phase de type OCP amorphe semble exister. L'hydrolyse, influencée par le pH du milieu, les concentrations en ions présents, la taille des cristaux et surtout la disponibilité des ions calcium, permet d'écrire les équations ci-dessous [79] :

$$Ca_8H_2(PO_4)_6, 5H_2O + 2\ Ca^{2+} + 4\ H_2O \rightarrow 2\ Ca_5(PO_4)_3OH + 3\ H_2O + 4\ H_3O^+ \quad (I.4)$$

$$1{,}25\ Ca_8H_2(PO_4)_6, 5H_2O \rightarrow 2\ Ca_5(PO_4)_3OH + 1{,}5\ H_3PO_4 + 3\ H_2O \quad (I.5)$$

I-5-1-d. Le phosphate amorphe (ACP)

Malgré le fait que les ions PO_4^{3-} sont très peu présents à pH < 11, le phosphate tricalcique (TCP) peut précipiter à cause de sa faible solubilité. Hormis *Bow et al.* décrivant la synthèse de β-TCP à température ambiante dans le méthanol [82] et *Gaela et al.* dans l'éthylène glycol à des températures modérées (90-170 °C) [83], les phases α- et β-TCP se forment généralement à haute température en chauffant un mélange de phosphates de calcium ayant un rapport Ca/P égal à 1,5 [73]. De plus, le TCP pur et cristallisé ne pouvant pas être obtenu par précipitation directe en solution aqueuse, une phase amorphe appelée phosphate de calcium amorphe (ACP), ou plus exactement phosphate tricalcique amorphe, est alors formée. Ce composé peut, lui aussi, présenter des valeurs de ratio Ca/P assez variées : 1,18 - 1,50 lorsqu'il est formé dans une gamme de pH de 6,6 à 10,6 [79]. Cela traduit un déficit en calcium compensé par l'incorporation d'ions HPO_4^{2-}. L'ACP est également considéré comme un intermédiaire durant la transformation des CaP en milieu aqueux et en particulier lors de la formation de la ns-HAP en passant par des phases transitoires telles que l'OCP [79].

I-5-1-e. Les apatites (HAP et ns-HAP)

L'hydroxyapatite peut être synthétisée par de nombreuses voies. Par voie humide deux synthèses sont principalement utilisées. La première est la précipitation par double décomposition à partir d'une solution de calcium et d'une solution de phosphate. Cette méthode est simple et permet de moduler de nombreux paramètres lors de la synthèse comme la composition des solutions, leur

pH, la vitesse d'ajout des solutions etc. Une autre méthode consiste à neutraliser une solution de $Ca(OH)_2$ par de l'acide phosphorique [73]. Les apatites phosphocalciques sont les phases de CaP les plus stables thermodynamiquement en milieu neutre et alcalin ; ce qui leur permet de se former dans une large gamme de conditions de pH et de température. Cependant, l'obtention d'une hydroxyapatite stœchiométrique (rapport Ca/P = 1,67) est difficile et dépend de nombreux paramètres à savoir le pH, la température, le temps de maturation, la vitesse d'ajout des réactifs et des ions étrangers présents dans la solution. Aussi, la formation d'une hydroxyapatite stœchiométrique bien cristallisée nécessite une étape de calcination. Nous nous intéresserons alors dans notre étude aux apatites non stœchiométriques (ns-HAP) généralement déficientes en calcium et présentant un rapport Ca/P compris entre 1,34 et 1,66, principalement dû à l'incorporation d'ions hydrogénophosphate et de lacunes en ions hydroxyde. La ns-HAP comme l'OCP, est constituée d'ions HPO_4^{2-} et PO_4^{3-} et présente une structure cristalline proche de ce dernier ce qui complique la discrimination de ces deux phases par exemple par spectroscopies vibrationnelles (FTIR (*Fourier Transform InfraRed spectroscopy)* et Raman) ou par diffraction des rayons X lorsqu'elles sont mal cristallisées [79]. De plus, dans la pratique, l'aspect cinétique est déterminant car les apatites présentent une vitesse de formation beaucoup plus lente que le DCPD, l'OCP et l'ACP. La formation d'apatite est alors déterminée par la vitesse d'hydrolyse des phases intermédiaires.

I-5-1-f. Solubilité des phosphates de calcium en milieux aqueux

La solubilité des différentes phases de CaP précédemment décrites est une propriété physico-chimique importante à considérer pour appréhender la capacité de résorption de ces phases une fois implantées. Des études ont été menées dans des solutions aqueuses à pH physiologique (pH = 7,4) démontrant que le DCPD est plus soluble que l'OCP, qui est lui-même plus soluble que les apatites et surtout qu'une hydroxyapatite stœchiométrique (Figure I-15 et Tableau I-8). Il faut noter que les fluides biologiques ont un produit ionique voisin du produit de solubilité de l'OCP. Cela implique qu'ils sont sursaturés par rapport aux phosphates de calcium dont le produit de solubilité est inférieur à celui de l'OCP (comme l'hydroxyapatite) ; ces phases ne peuvent donc pas se dissoudre (sans tenir compte du rôle des autres acteurs *in vivo* comme celui des cellules qui peuvent contribuer à la dégradation des CaP). Néanmoins, des pH relativement acides peuvent être rencontrés lors d'une réaction inflammatoire ou lors du remodelage osseux, engendrant la dissolution de toutes les phases de CaP. Il faut remarquer qu'à pH acide, c'est le DCPD qui est la phase la plus stable. En milieu aqueux, les phases les plus solubles telles que l'ACP, le DCPD, l'OCP et l'apatite non stœchiométrique se transforment en phase plus stable, généralement une phase apatitique moins lacunaire [73]. Cette évolution est conditionnée par la température, le pH et les concentrations en Ca et P.

I-5-1-g. Propriétés biologiques des phosphates de calcium

Les phosphates de calcium précédemment présentés peuvent être considérés comme des matériaux bioactifs. La bioactivité peut être définie par la possibilité qu'a une céramique bioactive à se lier directement au tissu osseux en évitant la formation d'un tissu fibreux. Elle peut aussi être définie comme un matériau favorisant la cicatrisation osseuse. Il a, en effet, été démontré que les CaP permettent une liaison chimique au tissu osseux et améliorent la formation d'une interface stable. Ils favorisent aussi, à leur surface, la germination de CaP à partir des fluides biologiques [73].

La biodégradation de ces CaP dans les fluides biologiques est généralement reliée à leur solubilité. D'autres caractéristiques telles que la taille des grains, la porosité, la cristallinité, la microstructure, le pH du milieu environnant, la surface exposée ou encore le contexte biologique (état inflammatoire,…) sont aussi déterminants [80], [84]. En se référant au paragraphe précédent, le DCPD ainsi que l'OCP sont susceptibles de se dissoudre. Cependant, ceci n'implique pas forcément la disparition du matériau car sa dissolution mène à une sursaturation locale des fluides biologiques pouvant induire la reprécipitation d'une phase de CaP plus stable comme une phase apatitique. Cela est observé pour les phases les plus solubles qui sont transformées en apatite mal cristallisée une fois implantées [85]. L'activité cellulaire, pouvant mener à un abaissement du pH est également à considérer dans la biodégradation de ces matériaux. Il faut noter que la présence d'éléments étrangers dans la composition des phases de CaP peut significativement modifier leur solubilité et donc leur résorption [73].

I-5-2 Les procédés de revêtement étudiés

I-5-2-a. Le procédé par immersions

Le procédé d'immersions est un procédé basse température utilisant la voie aqueuse. Il permet d'obtenir des revêtements fins (< 10 µm) et peut recouvrir des formes complexes [86]. Il permet également la fonctionnalisation du revêtement par des molécules thermosensibles comme des facteurs de croissance, des antibiotiques etc. [77]. De plus, cette méthode de revêtement, de part sa versatilité, permet la formation de différentes phases de phosphates de calcium comme l'OCP [87] ou l'apatite biomimétique carbonatée [86] en fonction des conditions de synthèse choisies. Après implantation, la dissolution et la reprécipitation de ces phases vont contribuer à la reconstruction du tissu osseux [88]. Ce procédé par immersion est généralement utilisé dans le but d'obtenir un revêtement de CaP sur des substrats métalliques [89] ou polymériques [90], ou bien pour former des composites organique/inorganique [91].

Cette technique met généralement en œuvre l'utilisation de fluides biologiques artificiels (Simulated Body Fluid - SBF). Cette solution métastable, est sursaturée et permet la précipitation de phosphate de calcium. Cependant, une faible quantité de CaP, soit environ 150 mg d'apatite, précipite par litre de solution SBF dans le cas le plus favorable. De plus, ceci nécessite un temps long de plusieurs heures à plusieurs jours en fonction de la capacité de la phase à nucléer à la surface de l'implant [92]. Afin d'augmenter la cinétique de dépôt et la quantité de CaP formée, des études ont été menées avec des concentrations en calcium et phosphates plus élevées [86] [89] [93]. Ces solutions sont généralement nommées SBF x2, x5 ou x10. Cependant, lorsque ces solutions sont hautement sursaturées, les phases de phosphates de calcium précipitent spontanément dans la solution et donc l'efficacité de la formation du revêtement est diminuée et ses caractéristiques sont compliquées à contrôler. De plus, la préparation ainsi que l'utilisation de ces solutions métastables à l'échelle industrielle sont problématiques à cause de la précipitation non contrôlée dans la solution ainsi que sur toutes les surfaces des équipements, qu'il faut entièrement éliminer après chaque lot produit.

Afin de s'affranchir de ces problèmes, un procédé par immersions successives, décrit dans de nombreuses études, a été développé. Brièvement, ce procédé consiste en l'utilisation de 2 bains distincts : l'un contenant un sel de calcium et l'autre un sel de phosphate ; évitant ainsi l'état de sursaturation des solutions mises en œuvre. Ce procédé est décrit lors de la mise en place d'un revêtement sur des matériaux comme des films de collagène [16], un gel d'alcool polyvinylique (PVA) [94], un hydrogel de gomme de xanthane [95] ou de chitosan [96], des gels de silice [97], des polymères [90], [98], [99] ou encore un tissu de soie [100] ; alors qu'une seule étude reporte sa mise œuvre sur un substrat métallique de titane [101]. *Stranger et al.* utilisent également ce procédé afin de former un composite organique/inorganique composé d'hydroxyapatite et de gélatine [91].

Les différents protocoles décrits dans la littérature indiquent que l'échantillon est immergé dans une solution de calcium ou de phosphate dans un premier temps, rincé puis immergé dans le deuxième bain contenant l'autre ion avant d'être rincé une nouvelle fois et séché.

Concernant la solution de calcium, le sel généralement utilisé est le chlorure de calcium ($CaCl_2$). La concentration de la solution peut varier de 200 mM [90] à 500 mM [95]. Cependant *Ijima et al.* ont montré que cette concentration n'a pas d'influence sur le rapport Ca/P finalement obtenu et n'ont pas étudié l'épaisseur déposée [94]. Le pH est également ajusté proche des conditions physiologiques à savoir 7,4 grâce à une solution tampon telle que le TRIS-HCl (Tris(hydroxymethyl)aminomethane hydrochloride) [97], [99] ou l'HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) [94]. Le temps d'immersion, qui ne permet pas de faire varier le

rapport Ca/P de la phase obtenue d'après *Ijima et al.* [94] et qui n'influe pas la quantité d'apatite finalement formée d'après *Tagushi et al.* [90] , varie de 10 secondes [98] à 5 heures [94] selon les études réalisées à 37 °C.

Les échantillons peuvent ensuite être rincés entre les bains de sel ou alors seulement après les deux bains. Cette étape semble cruciale car le lavage des échantillons ne doit pas éliminer tous les ions fixés sur l'échantillon lors du premier bain afin que ceux-ci puissent réagir avec les ions du second. En effet, les auteurs décrivent des interactions des ions calcium avec les groupes carboxyles lors de l'utilisation d'un hydrogel de gomme de xanthane [95] ; avec les silanols lors de l'utilisation d'un gel de silice [97] alors que dans les autres situations le mécanisme d'interaction n'a pas été élucidé [90]. Ils mettent tout de même en avant le fait que l'adsorption des ions calcium sur le substrat polymère est maximale et atteint sa limite après 10 secondes d'immersion afin de conclure qu'un temps plus long d'immersion dans le bain est inutile [90].

Le bain de phosphate, quant à lui, est réalisé grâce à des sels d'hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4) [102] ou d'hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4) [99] ayant une concentration variant de 120 mM [98] à 300 mM [95] permettant alors de conserver un rapport Ca/P de 1,67, caractéristique de l'HAP.

Les échantillons sont ensuite rincés une nouvelle fois. C'est alors la fin d'un cycle.

Le cycle de trempage et de lavage peut être répété, parfois jusqu'à 100 fois [102]. Ce nombre de cycles permet de contrôler d'une part le rapport Ca/P de la phase de phosphate de calcium formée qui augmente avec le nombre de cycles [94] ainsi que la quantité de phosphate de calcium déposée [90], [95]. Cependant très peu d'auteurs estiment l'épaisseur des revêtements formés.

Finalement, la phase de phosphate de calcium généralement formée par cette technique est décrite comme une hydroxyapatite stœchiométrique (Ca/P = 1,67) [94] ou bien une apatite déficiente en calcium (Ca/P = 1,54 [98]), parfois avec une faible cristallinité [102].

Nous nous intéresserons finalement ici plus particulièrement aux travaux de *Kono et al.,* seuls auteurs à notre connaissance à avoir utilisé un substrat métallique de titane dans un procédé d'immersions successives [101]. Ils mettent en effet en avant le fait que le titane, relativement hydrophobe, rend difficile l'adsorption des ions calcium et phosphate à sa surface. Les auteurs réalisent dans un premier temps un traitement de surface grâce à de l'acide sulfurique menant à la création d'une couche de TiH_2 ainsi qu'un traitement alcalin consistant à tremper le substrat dans une solution de NaOH à 60 °C durant 24 heures. Ce dernier traitement a, en effet, été proposé par plusieurs auteurs utilisant le procédé d'immersion classique décrit précédemment mettant en œuvre les solutions SBF dans le but d'améliorer le procédé et plus particulièrement l'étape de germination des CaP [92], [101], [103]. Les auteurs décrivent ici l'immersion dans un bain de calcium de

concentration 0,5 M réalisé à partir de chlorure de calcium ; d'un rinçage à l'eau ; d'une immersion dans un bain de phosphate à 0,1 M réalisé à partir d'une solution d'hydrogénophosphate de sodium avant d'être lavé à nouveau. Les essais montrent l'importance des prétraitements car seul un revêtement est observé pour les échantillons ayant subis le traitement à la soude alors que ceux n'ayant subis aucun traitement ou l'attaque acide seule ne sont pas revêtus. De plus, la combinaison de l'attaque acide et du traitement alcalin mène à un revêtement plus épais. Aussi, et en accord avec les études précédemment décrites, *Kono et al.* montrent que le ratio Ca/P ainsi que la quantité d'apatite déposée augmentent avec le nombre de cycles alors que la température des solutions ainsi que le temps d'immersion n'ont pas d'impact sur ces deux dernières caratéristiques du revêtement. Un rapport Ca/P proche de celui de l'hydroxyapatite stœchiométrique (Ca/P = 1,67) a pu être observé après 50 cycles. Aussi, les revêtements d'apatites obtenus à des températures de bain de 4 et 37 °C possèdent une faible cristallinité par rapport à ceux obtenus à 60 °C. Il faut également noter que la mise au point du revêtement sur des substrats de forme complexe a été démontrée sur un maillage de titane.

Le mécanisme de formation du revêtement de CaP établi par ces auteurs et représenté sur la Figure I-16 se déroule en plusieurs étapes. Dans un premier temps, l'attaque à l'acide sulfurique permet la formation d'une fine couche de TiH_2. A la suite de cela, une couche d'oxyde de titane se reforme naturellement. Le traitement alcalin permet ensuite la formation d'une couche de titanate de sodium. Lorsque le substrat prétraité est immergé dans la solution de calcium, les ions Na^+ sont échangés par des ions H_3O^+ afin de créer une couche de Ti-OH. Les ions calcium sont ensuite incorporés dans cette couche hydratée. Enfin, lors de l'immersion dans le second bain, le calcium et le phosphate réagissent et précipitent sous forme de CaP.

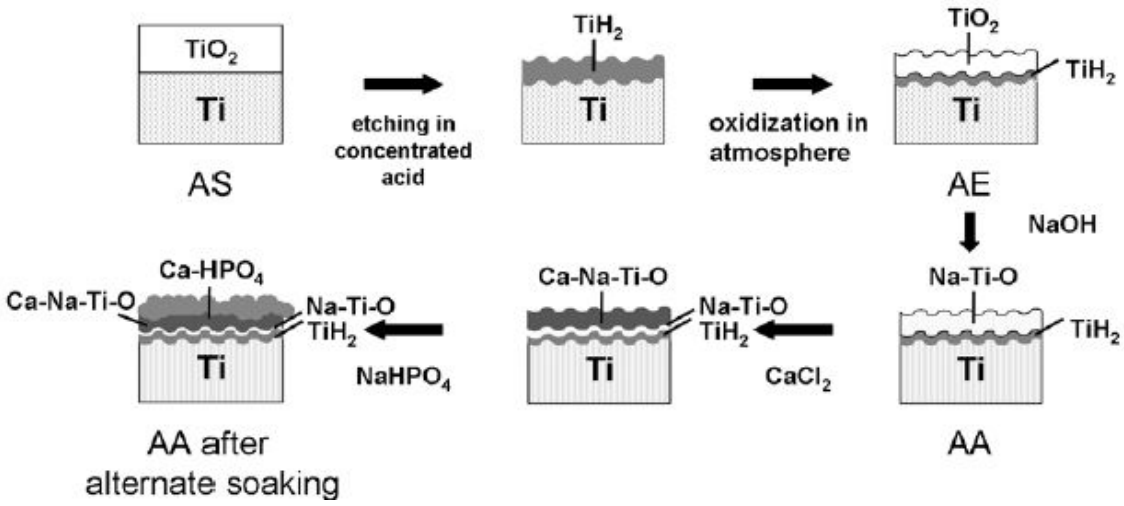


Figure I-16 : Schéma des modifications de surface supposées par *Kono et al.* après le pré-traitement de la surface et le procedé d'immersions successives [101]

I-5-2-b. Le procédé d'électrodéposition

L'électrodéposition de phosphates de calcium est une technique de plus en plus étudiée car elle utilise, elle aussi la voie aqueuse et reste un procédé dit basse température comportant alors les avantages cités précédemment pour le procédé d'immersions. De plus, ce procédé permet de former des revêtements hautement cristallins, de revêtir des structures poreuses ou des formes complexes, de contrôler l'épaisseur, la composition et la structure du revêtement, et cela grâce à des équipements peu onéreux [104].

Cette technique consiste à immerger trois électrodes dans une solution contenant des ions calcium et dihydrogénophosphate, appelée électrolyte. On peut alors distinguer l'électrode de travail positionnée en tant que cathode qui est ici l'implant à revêtir ; une contre électrode (souvent en platine ou graphite) et une électrode de référence (souvent au calomel saturé ou Ag/AgCl). Ces électrodes sont reliées à un générateur électrique pouvant travailler sous différents modes d'utilisation. Le premier est le mode potentiostatique où le potentiel entre l'électrode de travail et l'électrode de référence est maintenu constant. Le deuxième est le mode galvanostatique pour lequel c'est la valeur du courant qui est maintenue constante. Il est également possible de mettre en œuvre des régimes pulsés en appliquant un potentiel ou un courant pendant un temps T_{on} et une pause pendant un temps T_{off}. Un courant ou potentiel de signe opposé peut également être défini à la place du T_{off}. Ce générateur permet d'apporter l'énergie nécessaire pour la mise en place de réactions électrochimiques à la surface des électrodes, la circulation des ions dans l'électrolyte et des électrons dans le circuit extérieur [105].

Le mécanisme de la formation du revêtement de phosphate de calcium sur le substrat peut s'expliquer en différentes étapes. Les auteurs suggèrent que la précipitation peut se produire par trois voies : 1) une augmentation locale du pH engendrant la précipitation directe du CaP dans la solution en raison de leur plus faible solubilité à pH basiques. 2) des réactions acido-basiques menant à la précipitation dans la solution quand le produit de solubilité K_{SP} est atteint. 3) des réactions électrochimiques [106]. Ces réactions sont décrites par la suite.

Dans un premier temps la solution électrolytique, contenant les ions calcium et les ions phosphates généralement sous la forme dihydrogénophosphate ($H_2PO_4^{2-}$), est préparée. Les sels principalement utilisés sont le nitrate de calcium ($Ca(NO_3)_2,4H_2O$) et le dihydrogénophosphate d'ammonium ($NH_4H_2PO_4$). Les concentrations étudiées dans la littérature sont très variables : de 0,61 mM de Ca et 0,36 mM de phosphate [107] à 167 mM de Ca et 100 mM de phosphate [108]. Il

faut noter qu'un rapport Ca/P de 1,67 est généralement utilisé. Il est alors possible d'écrire les équations de dissolution suivantes [108] :

$$Ca(NO_3)_2, 4H_2O \rightarrow Ca^{2+} + 2\,NO_3^- \quad (I.6)$$

$$NH_4H_2PO_4 \rightarrow NH_4^+ + H_2PO_4^- \quad (I.7)$$

Ensuite lorsque le courant ou le potentiel est appliqué entre les électrodes, des réactions d'oxydoréduction se produisent à la surface de chaque électrode : il y a réaction d'oxydation à l'anode alors que la cathode est le siège d'une réaction de réduction. L'eau étant le solvant de la solution, elle est principalement concernée par ces réactions. L'oxydation de celle-ci peut alors s'écrire :

$$2\,H_2O \rightarrow O_2 \uparrow + 4\,H^+ + 4\,e^- \quad (I.8)$$

Et la réduction [106], [109], [110]:

$$2\,H_2O + 2e^- \rightarrow H_2 \uparrow + 2\,OH^- \quad (I.9)$$

De plus, si le pH de l'électrolyte est acide comme décrit par certains auteurs (pH = 4 - 4,5) la réduction du proton peut se produire [104], [111] :

$$2\,H^+ + 2e^- \rightarrow H_2 \uparrow \quad (I.10)$$

L'implant à revêtir étant la cathode c'est surtout la réaction de réduction qui est importante. La création de ces ions OH^- à l'extrême surface de l'implant conduit à une élévation locale du pH entrainant ainsi des réactions acido-basiques.

D'autres réactions, responsables de la création d'ions OH^- sont également décrites dans la littérature. On peut citer la réduction du dioxygène dissous dans l'électrolyte [106], [111] (équation I.11), la réduction des ions dihydrogénophosphate et hydrogénophosphate [106], [110], [111] (équations I.12, I.13, I.14 et I.15), la réduction des ions nitrates [104] (équation I.16) provenant du sel de calcium utilisé ou rajouté par certains auteurs afin d'augmenter la conductivité de la solution [112], [113] ou encore la réduction du dioxyde de titane [104] (équation I.17). Il faut néanmoins noter que la quantité de ces ions est minoritaire comparée à celle de l'eau. La réaction de réduction de l'eau peut donc être considérée comme majoritairement responsable de la création des ions OH^- et donc de l'élévation du pH comme représenté sur la Figure I-17.

$$O_2 + 2\,H_2O + 4\,e^- \rightarrow 4\,OH^- \quad (I.11)$$

$$H_2PO_4^- + H_2O + 2e^- \rightarrow H_2PO_3^- + 2\,OH^- \quad (I.12)$$

$$2\,H_2PO_4^- + 2\,e^- \rightarrow 2\,HPO_4^{2-} + H_2\uparrow \quad (I.13)$$

$$H_2PO_4^- + 2\,e^- \rightarrow PO_4^{3-} + H_2 \quad (I.14)$$

$$2\,HPO_4^{2-} + 2\,e^- \rightarrow 2\,PO_4^{3-} + H_2\uparrow \quad (I.15)$$

$$NO_3^{2-} + H_2O + 2\,e^- \rightarrow NO_2^- + 2\,OH^- \quad (I.16)$$

$$TiO_2 + 2\,H_2O + e^- \rightarrow Ti(OH)_3 + OH^- \quad (I.17)$$

Comme expliqué précédemment, le pH atteint au voisinage de l'implant permet la mise en place de réactions acido-basiques entrainant la dissociation des ions dihydrogénophosphate présents en solution suivant les équations (I.18) et (I.19) [108]–[110] :

$$H_2PO_4^- + OH^- \rightarrow HPO_4^{2-} + H_2O \quad (I.18)$$

$$HPO_4^{2-} + OH^- \rightarrow PO_4^{3-} + H_2O \quad (I.19)$$

Eliaz et Sridhar proposent la probabilité de présence des différentes acidités des ions phosphates en fonction du pH de la solution, comme représenté par le diagramme de spéciation sur la Figure I-18 [114]. Il apparait que pour un pH compris entre 2,2 et 7,2 les ions dihydrogénophopshate ($H_2PO_4^-$) sont majoritaires, alors que si la valeur du pH est comprise entre 7,2 et 12 ce sont les ions hydrogénophosphate (HPO_4^{2-}) qui le sont pour finir avec les ions phosphate PO_4^{3-} devenant majoritaires pour un pH supérieur à 12.

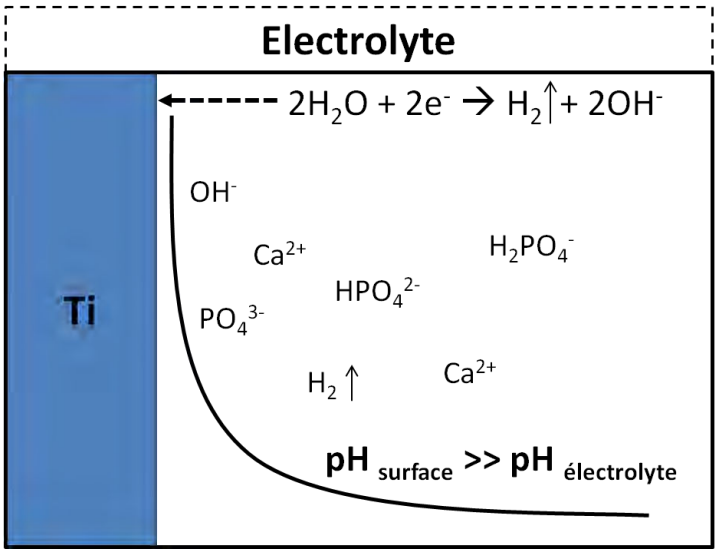


Figure I-17 : Schéma représentant l'élévation locale du pH à la surface de la cathode ainsi que les espèces présentes produites lors de l'application d'un potentiel ou d'une densité de courant. Modifié à partir de [105]

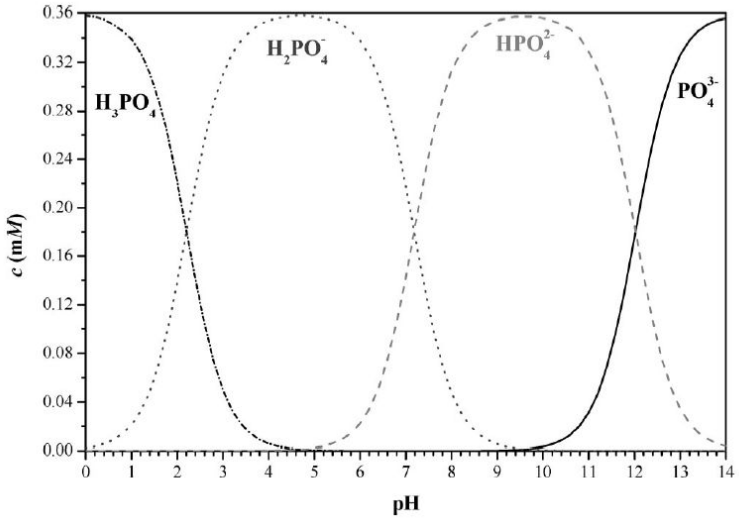


Figure I-18 : Distribution des espèces de phosphates en fonction du pH à 37 °C (diagramme de spéciation des phosphates en solution) et pour une concentration de phosphate de 0,36 mM et une concentration libre en hydrogène de 10^{-6} M [114]

Pour finir, les réactions acido-basiques précédemment décrites engendrent une sursaturation ionique à l'extrême surface de la cathode provoquant ainsi la précipitation de phosphates de calcium dont le produit de solubilité est généralement faible. Selon les valeurs de pH et donc les ions majoritairement présents, il est possible d'obtenir différentes phases de phosphate de calcium à savoir [104], [108], [110] :

- La brushite (DCPD) :

$$Ca^{2+} + HPO_4^{2-} + 2\,H_2O \rightarrow CaHPO_4, 2H_2O \qquad (I.20)$$

- Le phosphate octocalcique (OCP) :

$$8\,Ca^{2+} + 2\,HPO_4^{2-} + 4\,PO_4^{3-} + 5\,H_2O \rightarrow Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4, 5H_2O \qquad (I.21)$$

- L'apatite déficiente en calcium (ns-HAP) :

$$(10-x)\,Ca^{2+} + x\,HPO_4^{2-} + (6-x)PO_4^{3-} + (2-x)\,OH^- \rightarrow Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}OH_{2-x} \quad \text{avec } 0<x<2 \qquad (I.22)$$

- L'hydroxyapatite (HAP) :

$$10\,Ca^{2+} + 6\,PO_4^{3-} + 2\,OH^- \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6OH_2 \qquad (I.23)$$

Ce procédé, très versatile et simple d'utilisation, permet de contrôler de nombreux paramètres tels que la concentration en sels de calcium et phosphate, la température et le pH de la solution électrolytique ainsi que les paramètres électriques. Ces derniers ont une influence sur le

revêtement de phosphate de calcium finalement obtenu. Nous nous intéresserons ici à certains d'entre eux d'après les données de la littérature.

La densité de courant ou le potentiel appliqué semble avoir un effet considérable sur la phase de CaP formée car ils influent directement sur la création des ions OH^- et donc sur l'élévation locale du pH [115]. Concernant le potentiel appliqué, la germination des CaP commence à - 842 mV mais un potentiel inférieur à - 1,26 V/ECS est nécessaire pour améliorer leur croissance [104]. Pour ce qui est de la densité de courant, *Dumelié et al.* décrivent l'obtention d'OCP avec une densité de courant de 2 mA/cm^2 et de ns-HAP avec 5 mA/cm^2 [110] alors que *Kuo et Yen* décrivent l'apparition de DCPD pour des densités de courant de 1 à 5 mA/cm^2 et d'HAP pour des densités de courant supérieures à 10 mA/cm^2. Ces résultats diffèrent certainement à cause de l'utilisation de températures différentes : le premier essai a été mené à 60 °C alors que le second l'a été à température ambiante. Aussi, afin d'augmenter le pH et donc de former une HAP, les densités de courant et potentiels ont été augmentés. Néanmoins, la production des ions OH^- est accompagnée de celle de bulles de dihydrogène menant à des problèmes d'homogénéité et de tenue mécanique du revêtement [105], [111]. Des études ont alors utilisé le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) afin d'augmenter la création d'ions OH^- [105], [111] ou la mise en œuvre de l'électrodéposition en mode pulsé en appliquant des temps de dépôt et des temps de repos [116]–[119] mais ne seront pas décrits en détail ici. D'après *Adbel et al.* l'augmentation de la densité de courant permet également d'augmenter l'épaisseur du revêtement [108].

Concernant la température de l'électrolyte, *Eliaz* décrit un optimum entre 70 et 95 °C dans le but d'obtenir une HAP [104]. De plus, il met en évidence que plus la température du bain augmente moins il y a présence d'OCP et plus la masse de CaP déposée augmente. La température permet également l'obtention d'un revêtement plus homogène car la mobilité ionique augmente [120]. Aussi, l'élévation de la température permet d'éliminer le CO_2 présent dans la solution électrolytique, qui, au contact de l'eau forme l'acide carbonique (H_2CO_3) qui conduit alors à la formation d'ions hydrogénocarbonate et carbonate en milieu basique pouvant réagir avec les ions calcium présents dans la solution [105].

Les concentrations en ions calcium et phosphate introduits dans l'électrolyte ont une influence sur la morphologie du revêtement finalement obtenu [112]. En effet, une concentration faible en calcium (0,6 mM) permet d'obtenir une hydroxyapatite de forme *« rod-like »* ayant une base hexagonale alors qu'une concentration plus importante en calcium (40 mM) conduit à une structure *« ribbon-like »*. Cependant il faut noter que dans cette étude menée par *Ye et Wang*, le pH

de la solution électrolytique est plus bas lors de l'utilisation d'une concentration plus importante en Ca, influençant alors la phase formée et dans ce dernier cas la formation d'OCP et non d'HAP pouvant permettre d'expliquer l'observation de deux morphologies différentes.

Le pH initial de l'électrolyte est généralement égal à 4 - 4,6 ou ajusté à 7,4 suivant les études. Un pH à 4,2 donne un revêtement moins bien cristallisé, plus épais et plus poreux qu'un revêtement obtenu à partir d'une solution ayant un pH de 6 [114]. Les auteurs expliquent que la porosité dans le revêtement obtenu à pH = 4 peut s'expliquer par le fait qu'avec une solution acide il y a plus de création de dihydrogène conduisant à cette observation. La conclusion de cette étude sur l'épaisseur du revêtement est discutable car les concentrations en ions calcium et phosphate sont supérieures dans la solution à pH = 4 ; pouvant expliquer un revêtement final plus épais. De plus, le revêtement à pH 4 comporte des traces d'OCP alors que celui à pH 6 est uniquement composé d'HAP.

Le temps d'électrodéposition semble seulement avoir un effet sur l'épaisseur du revêtement obtenu [120]. Enfin l'agitation est très peu discutée. Il a été reporté que celle-ci diminue la taille des cristaux traduisant alors une augmentation du nombre de sites de germination [104].

Les études sont difficilement comparables dans le but d'obtenir des paramètres optimaux car des conditions différentes sont mises en œuvre telles que : la température, la concentration et le pH initial de l'électrolyte ainsi que la densité de courant ou le potentiel appliqué. La température de l'électrolyte et le potentiel ou la densité de courant appliquée semblent être les facteurs permettant d'obtenir un revêtement homogène et de contrôler les phases de CaP formées. *Eliaz* indique néanmoins qu'il est difficile de prévoir la phase qui précipite car les phosphates de calcium représentent un système complexe qui n'est pas uniquement régit par la thermodynamique mais aussi par la cinétique de formation des différentes phases [104] ; ce qui est en accord avec la partie précédente concernant les phosphates de calcium et décrivant des phases intermédiaires.

I-6. Vers un revêtement antibactérien…

I-6-1 *Le risque infectieux*

L'implantation dentaire est de plus en plus pratiquée car elle montre un taux de réussite de 90 à 95 % [121], [122]. Cependant étant un acte chirurgical, des infections risquent de se produire et plus spécifiquement pour les patients fumeurs ou ayant une mauvaise hygiène bucco-dentaire [122]. Dans le cas des implants dentaires, les infections les plus répandues autour de ces derniers sont les

peri-mucosites et les peri-implantites. La peri-mucosite ne touche que les tissus mous et reste superficielle alors que la peri-implantite touche les tissus mous ainsi que le tissu osseux engendrant une perte osseuse autour de l'implant pouvant alors conduire au descellement de l'implant [122], [123]. *Pye et al.* ainsi que *Prathapachandran et al.* estiment que la péri-implantite touche de 5 à 8 % des cas d'implantation alors que *Norowski et al.* décrivent qu'une péri-implantite est observée pour 14,4 % des implants dans les 5 années après implantation [121]–[123].

Ces infections bactériennes engendrent des complications chirurgicales induisant des douleurs et une anxiété supplémentaire pour le patient ainsi que des coûts plus importants pour ce dernier, le praticien et les systèmes de santé [122], [124], [125]. De plus, ces infections peuvent finalement conduire à un échec de l'implantation [123].

Les bactéries généralement présentes lors d'une péri-implantite sont des bactéries anaérobies à gram négatif telles que *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Prevotella nigrescens*, *Campylobacter gracilis* [123], [126].

Comme dans le cas des cellules, l'interaction des bactéries avec l'implant dentaire dépend de plusieurs facteurs comme la composition chimique, la charge, la mouillabilité et la rugosité de la surface [124]. Par exemple, une rugosité d'une dizaine de micromètres a été reportée comme augmentant drastiquement l'adhésion bactérienne alors qu'une surface plus lisse (Ra < 0,2 µm) ainsi qu'une surface nano-texturée ne l'améliore pas. Il est alors possible de remarquer que la rugosité de la surface de l'implant est à la fois importante afin de favoriser l'ostéointégration comme décrit dans la partie I-3-1 mais permet également l'adhésion des bactéries. Une surface hydrophobe, cette fois ci *a contrario* de l'amélioration de l'ostéointégration, mène à une colonisation bactérienne plus importante. De plus, les revêtements de phosphate de calcium montrent une contamination bactérienne plus importante et un développement de peri-implantite [122]. Aussi, l'adsorption de protéines provenant des fluides biologiques sur la surface du matériau mènent à des changements de la surface originale du biomatériau qui influencent alors l'adhésion bactérienne [124].

Une fois que ces bactéries ont adhéré à la surface de l'implant, elles peuvent former un biofilm. Ce dernier peut être défini comme une communauté de différentes bactéries qui coexistent au sein d'une matrice exopolymérique (principalement composée de polysaccharides) et qui est irréversiblement attachée à la surface [124]. La formation du biofilm peut se décomposer en différentes étapes : 1) attachement des bactéries de façon réversible à la surface du solide (influencé

par les propriétés de surface décrites précédemment). 2) accumulation des bactéries et attachement irréversible via la production de la matrice polymérique. 3) maturation du biofilm, formation de microcolonies de bactéries et piégeage de cellules planctoniques dans la matrice polysaccharidique. 4) détachement de certaines bactéries pour la colonisation de nouvelles surfaces [124]. Il faut noter que la moitié des infections sur les implants est causée par des microorganismes grossissant en colonies et aboutissant à un biofilm [127]. De plus, le biofilm protège les bactéries adhérentes du système de défense de l'hôte et des agents bactéricides [125]. En effet, il représente une barrière physique aux défenses de l'hôte car il est très compact et une barrière chimique car les agents antimicrobiens ne peuvent se lier aux bactéries afin de les éliminer [122]. Enfin, *Simchi et al.* rapportent que les bactéries en biofilm sont 10 à 1000 fois moins sensibles au traitement antibiotique qu'en culture planctonique où les bactéries sont en suspension dans un milieu.

Une fois formé, il est alors très difficile d'éliminer le biofilm même si certains traitements sont décrits dans la littérature : débridement mécanique, traitements antibiotiques ou antiseptiques locaux, traitements lasers et ultrasoniques,… [122], [123], [128]. Le retrait de l'implant est généralement la seule solution pour éradiquer le problème [125]. Il est alors nécessaire de prévenir l'adhésion bactérienne afin d'empêcher la formation du biofilm [125], [129]. Pour cela différentes stratégies ont été développées et seront décrites par la suite.

I-6-2 *Les stratégies mises en place*

Afin de prévenir ces infections post-opératoires, des modifications de la surface de l'implant ont été développées. Comme décrit précédemment, c'est de nouveau la surface qui est l'élément clé de l'adhésion bactérienne et le siège du développement du biofilm. Deux stratégies sont mises en évidence : la première repose sur la fonctionnalisation de la surface de l'implant et la seconde sur l'apposition d'un revêtement antibactérien.

Pour la première voie, l'adhésion bactérienne étant favorisée sur des surfaces hydrophobes, celle-ci peut être rendue très hydrophile. Dans ce but, des polymères hydrophiles (acide polyméthacrylique, polyéthylène glycol, …) peuvent être greffés afin de fonctionnaliser la surface de l'implant [122], [125].

Aussi, l'oxyde de titane (TiO_2) sous forme d'anatase permet d'obtenir une surface hautement hydrophile lors de l'exposition aux UV grâce à un effet photocatalytique [127]. *Simchi et al.* décrivent un angle de goutte diminué de 53,5 ° à 0 ° après 48 heures d'exposition aux UV [129]. Ces derniers permettent en effet, de part l'énergie des photons qu'ils produisent, de générer des excitons (paires

électron-trou) qui réagissent avec l'oxygène et l'eau contenus dans l'air et mènent à des radicaux hydroxyle et des ions superoxyde. Ces derniers sont très efficaces pour la dégradation des contaminants organiques ainsi que pour apporter des propriétés antibactériennes. Plusieurs mécanismes sont proposés à savoir l'oxydation directe de co-enzymes intracellulaires réduisant l'activité respiratoire de la cellule et menant donc à sa mort et l'attaque intracellulaire directe par les radicaux libres causant la rupture de la membrane.

L'adsorption d'antibiotique directement à la surface d'implants en titane a également été testée en utilisant par exemple de l'aminopropylsilane afin de fixer la vancomycine, un antibiotique [122].

D'autre part des revêtements, généralement à base de phosphates de calcium, enrichis en agents antibactériens ont également été évalués. Cette voie représente une des meilleures solutions techniques car elle permet de mieux contrôler le relargage de l'agent antibactérien [129].

Tout d'abord, on peut citer l'incorporation d'antibiotique tel que la gentamicine qui est très utilisée car c'est un antibiotique à large spectre et stable thermiquement [125]. D'autres sont également utilisés comme la céfalotine, la carbénicilline, l'amoxicilline, le cephamandole, la tobramycine et la vancomycine [130]. Ces antibiotiques sont généralement incorporés dans des revêtements de phosphate de calcium et principalement d'hydroxyapatite. Ils sont incorporés soit de façon directe ce qui peut être rendu difficile à cause de la température atteinte dans la mise en œuvre du procédé (ex : projection plasma) ou par post-traitement limitant son incorporation et ses caractéristiques de relargage (par exemple libération rapide de 90 % dans les 60 premières minutes) car l'antibiotique est adsorbé et non réellement incorporé dans le revêtement. De plus, il ne faut pas oublier le problème lié au développement de la résistance des souches bactériennes aux antibiotiques ainsi qu'à leur spectre d'activité peu large qui est peu efficace lorsque le traitement de plusieurs bactéries est nécessaire [122], [124], [127].

D'autres auteurs ont testé des revêtements contenant des agents organiques antimicrobiens non antibiotiques comme la chlorhexidine, le chloroxylénol et le lolyhexaméthylène biguanide ; pouvant alors être utilisés comme alternatives aux antibiotiques. Ils permettent de traiter un large spectre de bactéries mais des études ont montré des endommagements cellulaires; des tests de biocompatibilité plus approfondis sont nécessaires [125].

Enfin, l'utilisation de certains agents antimicrobiens inorganiques est une alternative très attractive car ils possèdent une activité antibactérienne élevée, une excellente biocompatibilité et une stabilité satisfaisante [125]. L'argent étant le plus connu, il est aussi possible de citer le cuivre, le fluor, le calcium, l'azote et le zinc. L'argent a été le plus étudié permettant ainsi d'apporter des propriétés antibactériennes à des polymères, des bioverres, des céramiques en utilisant des

procédés variés (projection plasma, PVD,…). Le dopage de revêtements de phosphates de calcium à l'aide d'argent, de cuivre et de zinc sera décrit plus en détail dans la partie suivante.

Il faut enfin noter qu'un autre traitement utilisant le monoxyde d'azote connu pour ses propriétés antibactériennes à large spectre pour les bactéries à gram positif et négatif est décrit dans la littérature [125], [129].

I-6-3 *L'argent, le cuivre et le zinc comme agents antibactériens*

Nous nous intéresserons ici à trois agents inorganiques présentant des propriétés antibactériennes que sont l'argent, le cuivre et le zinc [124], [131] et particulièrement à leur ajout dans des revêtements de phosphates de calcium. Leur avantage principal est de traiter un large spectre de bactéries à gram positif et négatif et de limiter le développement de la résistance des bactéries envers ces agents [124], [127]. De plus, l'effet antibactérien de ces éléments est décrit lorsque qu'ils sont sous forme métallique, ionique ou d'oxyde.

Les mécanismes mis en jeu par ces éléments antibactériens contre les bactéries sont divers [128], [129]. Premièrement, l'agent peut se lier aux groupes thiols, caractéristiques de nombreuses protéines et jouer un rôle fonctionnel et structural dans la bactérie menant à la mort de celle-ci. Aussi, ils peuvent altérer la fonction et la structure des protéines présentes dans la membrane de la bactérie engendrant sa rupture. Ensuite, ils sont capables de se lier et d'altérer certaines enzymes, cruciales pour la respiration cellulaire et métabolique. Enfin, ils peuvent interférer avec l'ADN à travers la division et la réplication cellulaire. Ces divers mécanismes d'action des agents permettent aussi d'expliquer le fait que le développement de la résistance des bactéries à ces derniers est inférieur comparé à celui en présence d'antibiotiques [124].

Des études rapportent des valeurs de concentration minimum inhibitrices (CMI) ainsi que les doses létales (LD50) reportées dans le Tableau I-9. Les valeurs obtenues ont une variabilité importante mais il est possible de voir une différence significative de CMI entre Ag^{+} et Cu^{2+} et Zn^{2+} montrant alors que l'action antibactérienne est bien plus importante pour l'argent que pour le cuivre et le zinc [124]. De plus, il faut noter qu'un équilibre en terme de quantité de dopant doit être établi afin d'avoir un effet antibactérien sans avoir d'effet cytotoxique sur les cellules environnantes telles que par exemple les ostéoblastes, cellules responsables de la reconstruction osseuse [127]. Pour cela des tests *in vitro* sont nécessaires dans un premier temps afin de statuer sur l'effet antibactérien et non cytotoxique de revêtements dopés en ions antibactériens.

Tableau I-9 : Concentration minimum inhibitrice de l'ion argent, cuivre et zinc contre des souches bactériennes diverses et dose létale 50 pour des fibroblastes de souris [124]

	CMI (µg/L)	DL50 (mmol/L)
Ag^+	0,03 – 8	$3,5\ 10^{-3}$
Cu^{2+}	256 – 448	$2,3\ 10^{-1}$
Zn^{2+}	768	$3,6\ 10^{-3}$

L'argent, connu depuis des décennies pour ses propriétés antibactériennes est le plus étudié dans la littérature car il possède un large spectre d'élimination des bactéries et est efficace à faible dose comme expliqué précédemment. Différents procédés sont décrits dans la littérature afin d'incorporer de l'argent dans des revêtements de phosphate de calcium et plus particulièrement d'apatite. Celui-ci peut être ajouté sous forme de nanoparticules métalliques [128], [132]–[135] ou d'oxydes [136], [137] ou sous forme ionique [138], [139]. Les taux d'incorporation varient énormément d'une étude à l'autre : *Noda et al.* incorporent 0,3 m/m % par rapport au calcium alors que *Lu et al.* incorporent entre 6,7 et 14,8 % [135], [137]. Aussi, des essais microbiens et cellulaires permettent de quantifier les propriétés biologiques de ces revêtements dopés. *Chen et al.* décrivent un effet antibactérien contre *S. Epidermidis et S. Aureus* et aucune cytotoxicité envers des précurseurs ostéoblastiques pour un taux d'argent de 2,05 m/m % [133]. *Lu et al.*, quant à eux, démontrent un effet antibactérien contre *E. Coli* et *S. Albus* pour des taux d'argent de 6,7 et 14,8 m/m % mais un effet cytotoxique est observé sur les ostéoblastes pour la concentration en argent la plus élevée [135].

Le cuivre est généralement incorporé sous forme ionique. *Bir et al.* décrivent un dopage de l'hydroxyapatite par les ions cuivre à hauteur de 1,23 m/m % permettant de lutter efficacement contre *S. Aureus* mais n'ont pas mené d'essai de cytotoxicité [138]. *Huang et al.* dopent à environ 0,80 m/m % en cuivre et montre l'efficacité du revêtement contre *E. Coli* en prouvant sa non cytotoxicité envers les ostéoblastes [140]. Il faut également noter que le cuivre a aussi été incorporé afin de favoriser l'angiogenèse [141].

Le zinc, quant à lui, est décrit par *Bir et al.* ayant une activité antibactérienne contre *S. Aureus* pour une quantité de dopant égale à 1,24 m/m % mais aucun test de cytotoxicité n'a été mené. De plus, cet élément permet d'augmenter la prolifération des ostéoblastes et d'inhiber la différenciation des ostéoclastes pouvant alors mener à une reconstruction osseuse plus rapide [142]–[144].

Des co-dopages tels que l'association du cuivre et du zinc sont également décrits [145]. Pour *Tobin*, l'ajout d'autres éléments au revêtement, tels que le strontium, le zinc ou le magnésium, peut permettre de mitiger l'effet négatif potentiel des métaux antibactériens [127].

Il faut finalement noter que, d'après la littérature, l'identification d'une valeur optimale en élément antibactérien comme l'argent le cuivre et le zinc incorporé dans le revêtement est difficile à établir car cette quantité n'est pas systématiquement dosée et présentée dans les articles. De plus, il a été vu que la prolifération cellulaire ainsi que l'adhésion bactérienne dépendent des propriétés de la surface de l'implant et notamment de sa mouillabilité et de sa rugosité. Mais ces propriétés ne sont pas toujours mesurées dans les études, alors qu'elles pourraient permettre d'expliquer certains résultats obtenus. Aussi, les souches bactériennes étudiées afin de mettre en avant les propriétés antibactériennes des revêtements ne sont pas toujours identiques même si *S. Aureus* et *E. Coli* sont les plus largement utilisés.

I-7. Objectifs et méthodologie du travail de thèse

Il a été vu que le titane est un excellent biomatériau pour la conception d'implants dentaires car il possède des propriétés mécaniques adaptées. Cependant, celui-ci n'a pas tendance à favoriser l'ostéointégration car sa surface est considérée comme inerte de par la présence de sa couche d'oxyde. La solution actuelle consiste à la mise en œuvre de traitements de surface permettant de favoriser l'ostéointégration des implants.

Parmi les solutions visant à modifier les propriétés de surface des implants en titane, celle qui nous apparait pertinente pour à la fois favoriser l'ostéointégration osseuse et lutter contre le développement de biofilm est le dépôt d'un film mince à base de CaP dopé avec un agent ionique antibactérien.

Le cahier des charges pour la modification de la surface de l'implant en titane ainsi que pour l'ajout d'un revêtement de phosphates de calcium par voie humide a été défini conjointement par tous les partenaires du projet et est résumé ci-après :

- Une surface d'implant favorisant l'ancrage mécanique de l'implant dans le tissu osseux ainsi que l'accroche du revêtement de phosphate de calcium au substrat *via* une rugosité moyenne arithmétique (Ra) comprise entre 1 et 2 µm ;
- Un dépôt de phosphate de calcium permettant une liaison chimique entre l'os et l'implant ;

- Un dépôt résorbable en privilégiant alors des phases de phosphates de calcium métastables dans les conditions physiologiques (pH et température) à savoir la brushite (DCPD), le phosphate octocalcique (OCP) et l'apatite biomimétique (ou non-stœchiométrique (ns-HAP)) ;
- Un dépôt de faible épaisseur (< 2 µm) ;
- Un dépôt adhérent dans les conditions de vie de l'implant ;
- Une activité antibactérienne prolongée (sur plusieurs jours) ;
- Un procédé de dépôt industrialisable.

Pour répondre à ce cahier des charges et donc à ces objectifs, nous nous sommes attachés dans un premier temps à caractériser l'état de surface des implants à chaque stade des traitements actuellement mis en œuvre chez le partenaire industriel. Cette caractérisation de la surface de l'implant en termes de composition, microstructure, rugosité et mouillabilité de surface lors des différentes étapes de production a permis d'identifier les caractéristiques à optimiser en vue d'adapter l'état de surface de l'implant pour favoriser le dépôt du revêtement réalisé par la suite.

La seconde partie du travail a consisté à élaborer un revêtement mince à base de phosphates de calcium à la surface de l'implant et à le caractériser finement en termes de composition, microstructure, épaisseur et adhérence. Deux procédés de revêtement à basse température et en voie humide ont été évalués : les immersions successives et l'électrodéposition dont les principes ont été précédemment décrits.

Dans une troisième partie, les revêtements finalement obtenus ont été dopés grâce à des agents antibactériens inorganiques que sont l'argent, le cuivre et le zinc. Finalement les propriétés biologiques des revêtements dopés et non dopés ont été évaluées *in vitro*.

Chapitre II

Préparation de la surface des substrats

La préparation de la surface des substrats est importante dans le but d'obtenir une surface propice à l'accueil du revêtement. Afin de conserver l'aspect industrialisable du procédé de fabrication d'un implant revêtu, le cycle de préparation de la surface des implants du partenaire industriel a été étudié dans un premier temps afin de voir si celui-ci pouvait correspondre à nos attentes dans la perspective de favoriser la formation et l'adhérence du revêtement obtenu par voie aqueuse. Nous verrons par la suite pourquoi et comment celui-ci a été modifié.

II-1. Description de la géométrie des échantillons

Nous commencerons ici par définir les différents échantillons/substrats en titane utilisés lors de ce travail. En effet, les implants dentaires ayant une surface et forme complexe, il est difficile de mettre en œuvre les techniques d'analyse et de caractérisation des surfaces. C'est la raison pour laquelle les études ont été menées sur des géométries adaptées d'échantillon, tout en vérifiant grâce à quelques techniques de caractérisation comme le MEB et la spectroscopie Raman que la surface du substrat et le revêtement obtenu étaient identiques sur toutes les géométries de substrat mises en œuvre.

Des implants (Figure II-1 à gauche) long de 13 mm et ayant un diamètre de 4 mm ont été utilisés.

Des cylindres comportant quatre méplats (Figure II-1 au centre), appelés cales dans la suite de cette étude, ont le plus souvent été utilisés. En effet, hormis les filets, leur géométrie générale se rapproche de celle des implants. Ils mesurent 15 mm de long pour un diamètre de 6 mm et possèdent 4 méplats large de 3 mm facilitant les caractérisations telles que la mesure de la rugosité et de la mouillabilité ainsi que les analyses par diffraction des rayons X (DRX) et par spectroscopies Raman et FTIR en mode ATR *(Attenuated Total Reflectance)*.

Enfin, des pions d'un diamètre de 6 mm et de hauteur 6 mm (Figure II-1 à droite) ont également été conçus et fabriqués spécifiquement pour les tests biologiques *in vitro* nécessitant une surface circulaire, plane et bien définie.

Tous ces échantillons possèdent un trou taraudé M2 permettant leur maintien lors des divers procédés mis en place dans cette étude. Ils ont été réalisés en titane commercialement pur (cpTi) de grade 4 dont la composition chimique est reportée dans le Tableau II-1.

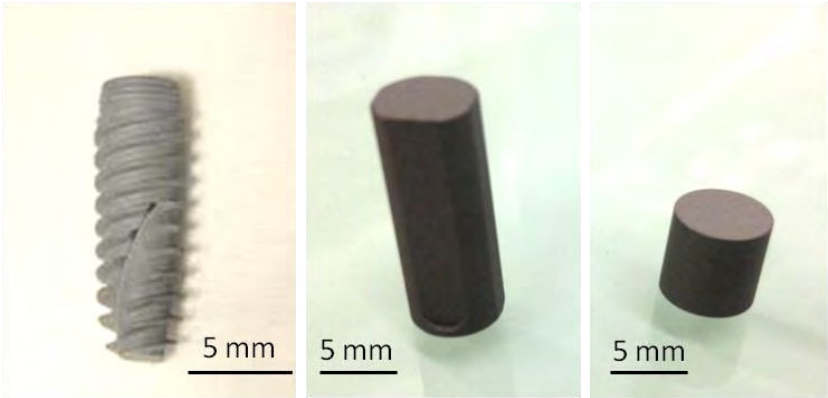


Figure II-1 : Photographie d'un implant (à gauche), d'une cale (au centre) et d'un pion (à droite)

Tableau II-1 : Composition chimique d'un titane pur de grade 4 [données CES Edupack 2017]

Eléments	O	N	H	Fe	C	Autres	Ti
% massique	< 0,4	< 0,05	< 0,015	< 0,5	< 0,08	< 0,4	Balance

II-2. Procédé de fabrication industrielle et caractérisations

Le procédé de fabrication d'un implant dentaire développé par l'entreprise se compose de plusieurs étapes dont les plus importantes sont l'usinage, le contrôle, le traitement de surface et le conditionnement. Celles-ci sont ponctuées d'étapes de nettoyage. Les grandes étapes du cycle de fabrication des implants sont représentées sur la Figure II-2.

Figure II-2 : Schéma représentatif de la succession des différentes étapes de fabrication d'un implant dentaire chez le partenaire industriel

Plus en détail, des barres de titane commercialement pur (cpTi) sont usinées grâce à une machine d'usinage 5 axes afin d'obtenir la forme de l'implant, la cale ou le pion. Les pièces sont alors dégraissées et nettoyées avant d'être contrôlées une à une par un opérateur qui vérifie l'aspect visuel ainsi que les dimensions. L'étape du traitement de surface arrive alors. Dans un premier temps, les pièces sont sablées grâce à une sableuse industrielle. Le corindon utilisé est du corindon blanc décrit comme le plus dur, le plus tranchant et le plus pur [146]. Dans un second temps, les pièces sont mordancées en les plongeant dans un bain d'acide composé d'acides nitrique (HNO_3) et fluorhydrique (HF). L'attaque acide est stoppée grâce à un second bain contenant une solution de bicarbonate. Les échantillons sont ensuite nettoyés et séchés. Finalement, les pièces sont conditionnées en salle blanche puis envoyées pour stérilisation aux rayons gamma.

Des pièces (cales, pions et implants) ont été prélevées à chaque étape importante du processus de fabrication à savoir après usinage, après sablage et après mordançage afin d'être caractérisées. Les résultats de ces caractérisations, effectuées sur des cales, sont présentés ci-après. Par la suite un état de surface usiné sera nommé M (Machined), une surface sablée sera appelée SL (Sandblasting Large grit) et une sablée mordancée correspondra à la dénomination SLA (Sandblasting Large grit Acid etching).

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'évolution de la topographie de surface après chaque traitement. Le microscope électronique à balayage a tout d'abord été utilisé afin d'observer celle-ci. Il apparait, conformément aux images précédemment exposées provenant de la littérature, que la surface usinée présente les marques d'usinage et semble assez lisse (Figure II-5a). La surface sablée quant-à-elle, permet l'observation d'une surface vallonnée (Figure II-5b) créée par les particules d'alumine qui ont entaillé le titane. Pour finir, la surface sablée et mordancée semble présenter un état de surface légèrement plus adouci, atténuant ainsi l'aspect vallonné observé pour une surface uniquement sablée (Figure II-5c).

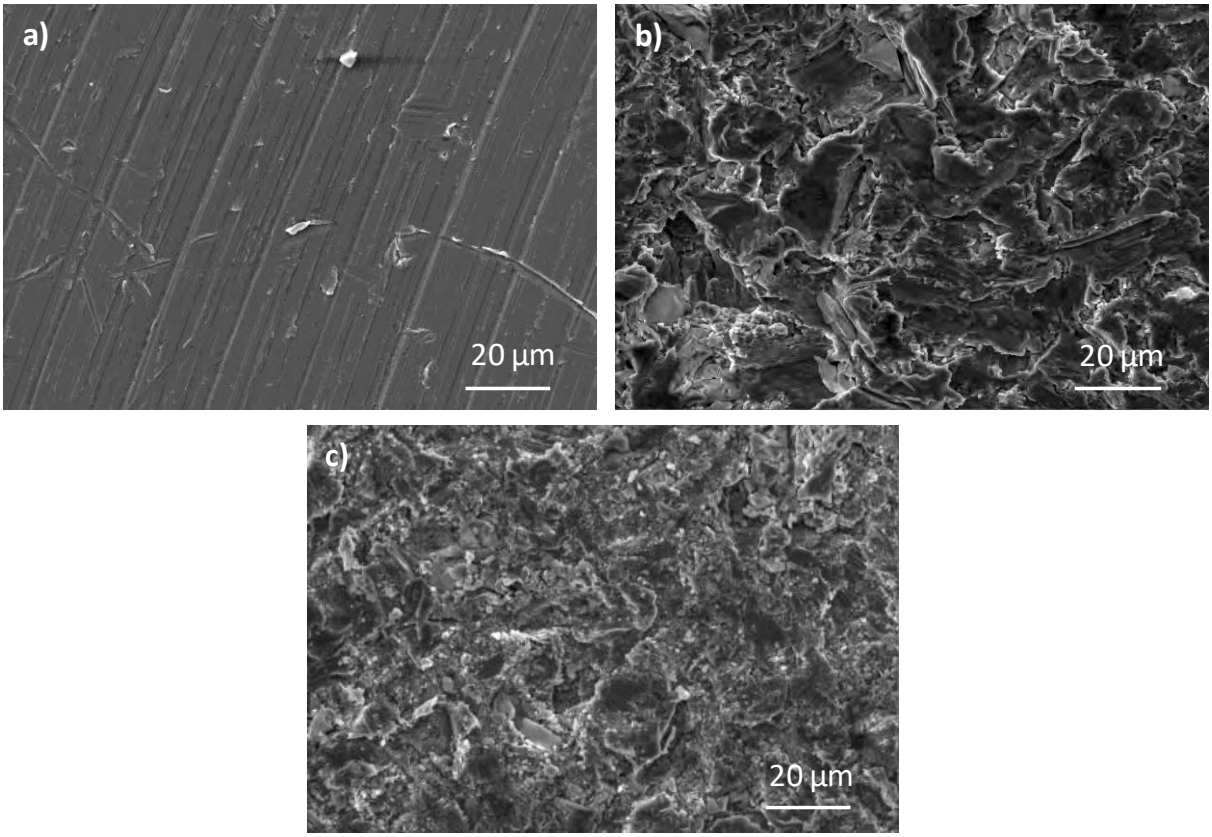


Figure II-3 : Micrographies MEB d'une surface de cpTi grade 4 a) usinée, b) sablée, c) sablée et mordancée observée en mode électrons secondaires

Afin de décrire plus précisément cette différence de morphologie de surface observée, la rugosité a été mesurée grâce à un microscope interférométrique *S-Neox* (Sensofar) à l'aide d'un objectif x10. Outre la mesure des paramètres de rugosité sur une surface de 1754 × 1320 μm^2, cet appareil permet une reconstruction 3D de cette surface ainsi que le tracé d'un profil 2D. Il est déjà possible d'observer une différence nette entre une surface usinée (M) (Figure II-4a) où les traces d'usinage sont visibles à l'instar des observations au MEB, alors que pour une surface sablée et mordancée (SLA) (Figure II-4b), des pics sont répartis de façon homogène à la surface. Trente mesures ont été réalisées sur les cales et les résultats sont présentés dans le Tableau II-3. Des différences majeures ont été observées entre les étapes d'usinage et de sablage. En effet, la rugosité moyenne arithmétique (Sa) et la rugosité moyenne quadratique (Sq) sont environ cinq fois plus élevées pour la surface sablée que pour la surface usinée. La hauteur maximale entre le sommet et la vallée (Sz) est également multipliée par quatre. L'évolution de ces derniers paramètres traduit une nette augmentation de la rugosité après l'étape de sablage qui atteint une valeur de Sa de 1,8 µm et de Sz de 23 µm. Un indicateur important à considérer est l'asymétrie de surface (Ssk) qui évolue d'une valeur positive pour la surface usinée vers une valeur négative pour la surface sablée. En effet, une valeur positive de Ssk, traduisant une distribution décalée vers les points les plus bas, correspond à une surface présentant des pics dépassant au-dessus de la surface alors qu'une valeur négative, traduisant une distribution décalée vers les points les plus hauts, correspond à une surface en plateau avec des pores ou des rayures. Cela signifie donc que les échantillons usinés possèdent une surface de laquelle dépassent quelques pics, en accord avec les observations réalisées au MEB. A contrario, les échantillons sablés présentent un plateau et des cratères en raison de l'effet de coupe des particules de sablage. L'aplatissement du profil (Sku) traduisant la largeur de la distribution des hauteurs ne varie pas d'une surface à l'autre et reste supérieur à trois. Ce résultat indique la présence de pics affûtés. Enfin, l'attaque acide semble conduire à une diminution des paramètres Sa, Sq et Sz traduisant une diminution de la rugosité même si l'écart-type associé ne nous permet pas de conclure. L'attaque acide pourrait lisser les crêtes créées par le sablage. Ssk reste négatif et Sku supérieur à trois comme pour la surface sablée uniquement.

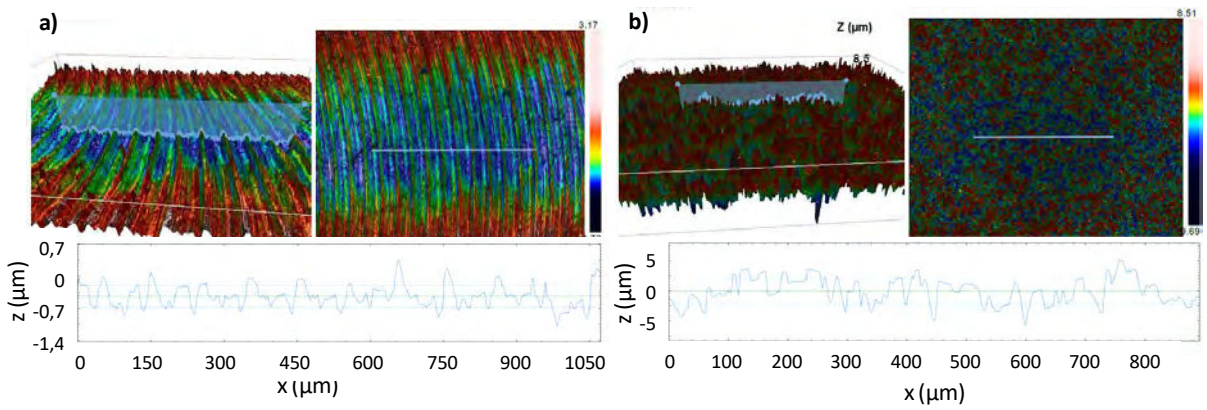


Figure II-4 : Reconstruction 3D de la surface analysée par le microscope interférométrique et profil 2D sur a) une surface usinée (M) et b) une surface sablée mordancée (SLA)

Tableau II-2 : Paramètres de rugosité pour chaque traitement de surface

	Traitements de surface		
	M	**SL**	**SLA**
Sa (µm)	0,4 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,7 ± 0,1
Sq (µm)	0,4 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Sz (µm)	6 ± 1	23 ± 1	22 ± 2
Ssk	0,3 ± 0,1	-0,14 ± 0,05	-0,20 ± 0,08
Sku	4 ± 2	3,4 ± 0,2	3,4 ± 0,1

Ensuite la composition chimique de la surface a été investiguée. Dans un premier temps, des particules d'alumine restant enchâssées dans le titane ont été mises en évidence grâce aux électrons rétrodiffusés et par analyse EDX sur les surfaces sablées ainsi que sablées et mordancées. En effet, en mode électrons rétrodiffusés, les particules d'alumine apparaissent sous forme des zones sombres alors que le titane est clair (Figure II-5a). Une cartographie EDX a permis de confirmer cela (Figure II-5e). La diffraction des rayons X révèle elle aussi la présence d'alumine pour la cale sablée ainsi que celle sablée et mordancée alors que seul le titane est visible pour la cale simplement usinée, en accord avec les fiches JCPDS n° 00-042-1468 et 00-005-0682 respectivement (Figure II-6).

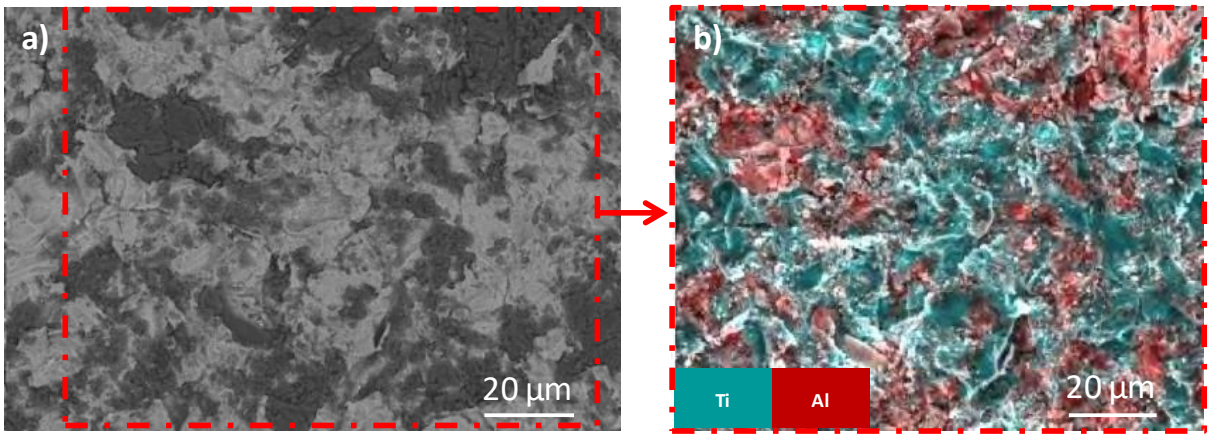


Figure II-5 : a) micrographie MEB d'une surface sablée et mordancée observée en mode électrons rétrodiffusés et b) cartographie EDX de la même surface montrant la répartition de Ti et Al

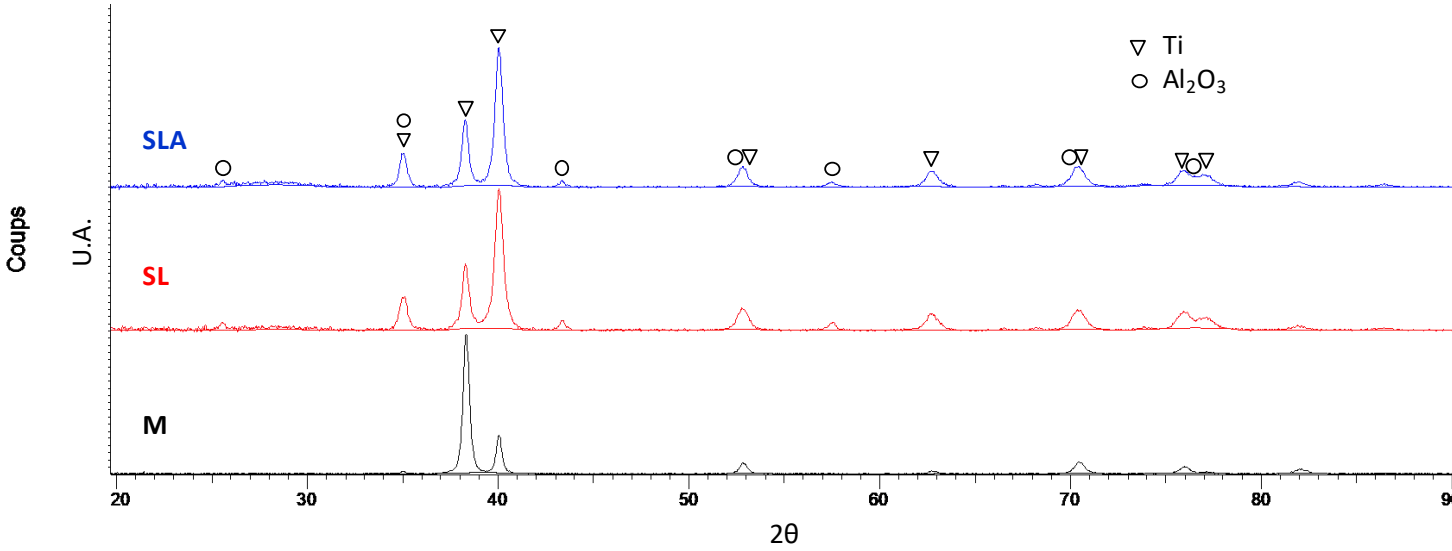


Figure II-6 : Diffractogrammes de rayons X d'une cale usinée (M) en noir, sablée (SL) en rouge et sablée mordancée (SLA) en bleu

Les analyses par spectroscopies Raman et FTIR n'ont pas donné de résultats complémentaires sur la caractérisation de la composition chimique de la surface de ces échantillons hormis le fait que la spectroscopie Raman renvoie une réponse pour les grains de corindon. C'est une des raisons pour laquelle la spectroscopie de photoélectons X (XPS) a été utilisée afin d'analyser l'extrême surface des différents échantillons et d'étudier l'influence éventuelle des traitements de surface sur la chimie de cette dernière.

Pour cela, des scans rapides utilisant une énergie de passage de 200 eV sont réalisés sur les échantillons M, SL et SLA dans le but d'identifier les éléments présents en surface et de prioriser les analyses. Par la suite, quatre points ont été analysés avec un spot de 400 µm de diamètre et une énergie de passage de 40 eV. Ensuite un de ces points a été choisi pour l'analyse de la chimie en

profondeur. Pour cela un décapage utilisant un spot de 200 µm de diamètre, des ions argon et une tension de 500 eV ont été mis en œuvre. L'étalonnage de l'appareil est effectué sur du ZrO_2 et du SiO_2 dont les vitesses d'abrasion sont de 0,15 nm/s et 0,3 nm/s respectivement. Sur tous les échantillons deux abrasions de 30 secondes suivies de trois abrasions de 60 secondes et de trois de 120 secondes ont été effectuées. En moyennant la vitesse d'abrasion à 0,2 nm/s, les profondeurs d'analyse hypothétiques sont de : 0, 6, 12, 24, 36, 48, 72, 96 et 120 nm.

Pour tous les échantillons (M, SL, SLA) les spectres du titane (Ti 2p) présentent des pics à 665,08, 459,08 et 453,88 eV lors de l'analyse de la surface sans abrasion (Figure II-7a, b et c). Les deux premiers, les plus intenses, correspondent respectivement aux bandes Ti $2p_{1/2}$ et Ti $2P_{3/2}$ attribuées à l'état Ti^{4+} mettant alors en évidence la présence de TiO_2 à la surface de tous ces échantillons [147]. Le pic moins intense provient de la bande Ti $2p_{3/2}$ du titane métallique. Après la première abrasion, les pics présents à 460,1 et 453,9 eV sont relatifs au doublet Ti 2p du titane métallique alors que ceux correspondant au TiO_2 ont disparu. Cela indique alors que l'épaisseur de la couche d'oxyde pour tous les types d'échantillon est inférieure à 6 nm (valeur hypothétique) et donc que les traitements appliqués ne font varier ni la composition chimique de l'oxyde présent en surface ni son épaisseur.

Pour les échantillons sablés (SL) et sablés mordancés (SLA) le scan rapide a mis en évidence la présence d'aluminium. Le spectre à haute résolution de l'aluminium (Figure II-7d) laisse apparaitre un pic compris entre 74,7 et 75,5 eV correspondant à l'alumine [148]. Cet élément a en effet été précédemment détecté et provient des particules de sablage enchâssées dans le substrat.

Finalement la surface sablée et mordancée (SLA) contient du fluor et la bande F 1s (Figure II-7e) aux alentours de 685,5 eV est présente jusqu'à 180 secondes d'abrasion (≅ 36 nm). Cette bande peut être assimilée à du TiF_4 [149] certainement créé par l'étape de mordançage réalisée avec un mélange acide HF/HNO_3.

Pour conclure cette étude sur l'évolution de la composition chimique de surface après les différents traitements de surface à savoir le sablage et le mordançage, nous pouvons dire que ces derniers n'induisent pas de modification de la composition ni de l'épaisseur de la couche d'oxyde de titane présent en surface des échantillons. Cet oxyde correspond à du TiO_2 dont l'épaisseur est inférieure à 6 nm. Ce résultat est en accord avec la littérature présentant un film d'oxyde natif de TiO_2 d'une épaisseur de 3 à 7 nm [31].

Comme classiquement observé, le sablage laisse des particules d'alumine enchâssées dans le titane. L'attaque acide réalisée ne modifie pas la topographie de la surface et ne semble pas permettre d'éliminer les particules résiduelles de sablage. Une optimisation de l'attaque acide peut alors être envisagée.

Enfin, l'attaque acide induit l'incorporation du fluor à la surface de l'implant. La présence de cet élément dans les implants pourrait avoir un effet positif sur la reconstruction de l'os. En effet, des études *in vitro* montrent que des cellules mésenchymateuses prolifèrent mieux et que l'expression de gènes ostéoblastiques (sialoprotéine osseuse et BMP-2) est accrue sur ce type de surface fluorée [150]. De plus, des études *in vivo* démontrent des surfaces de contact os/implant ainsi que des couples de retrait supérieurs pour des implants contenant du fluor par rapport à des implants de référence n'en contenant pas [151], [152].

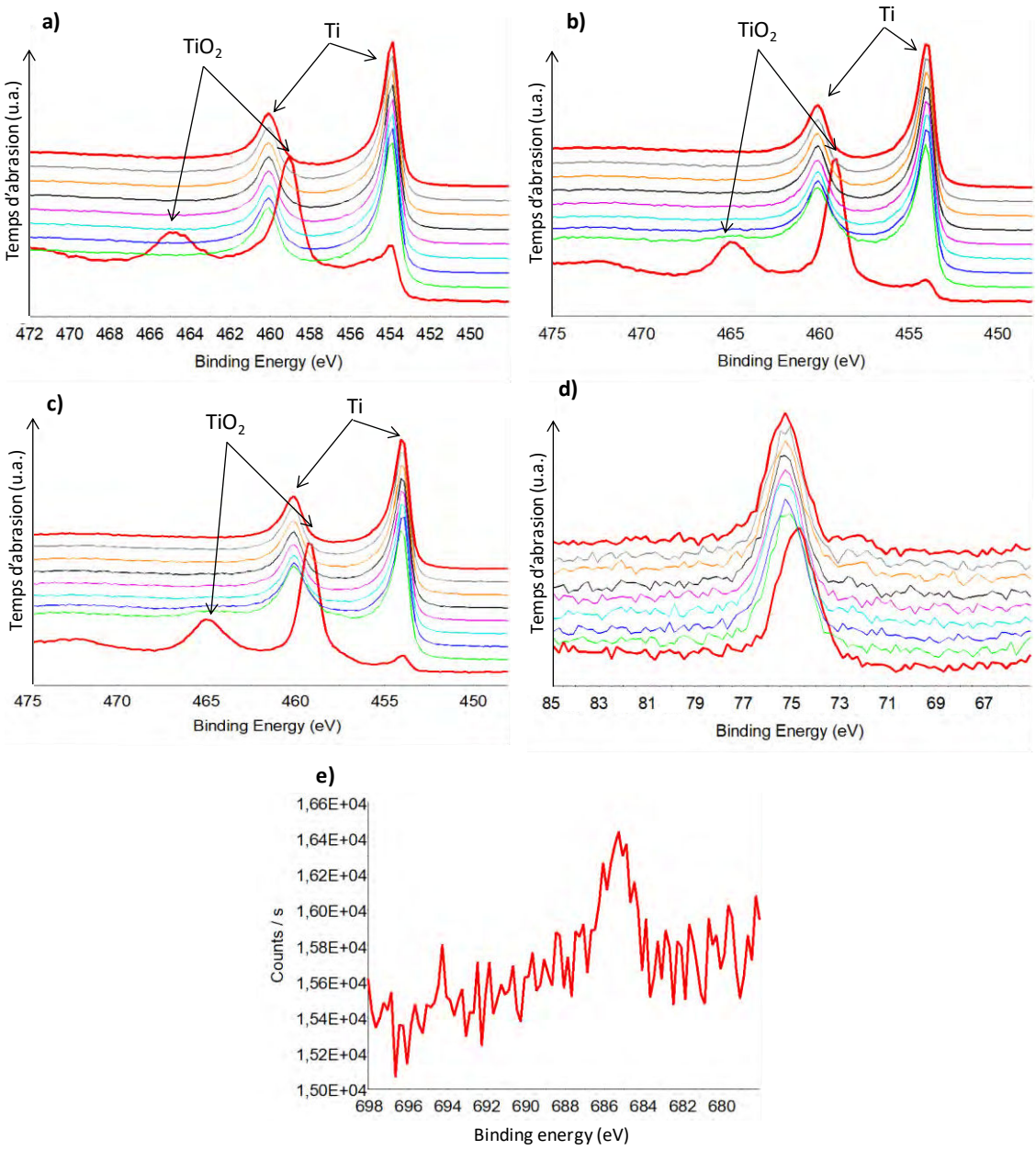


Figure II-7 : Spectres XPS réalisés à différentes profondeurs (pour a, b, c et d) de : a) Ti 2p sur échantillon usiné (M); b) Ti 2p sur échantillon sablé (SL); c) Ti 2p sur échantillon sablé et mordancé (SLA); d) Al 2p sur échantillon sablé (SL) et e) F 1s sur échantillon sablé et mordancé (SLA) sans abrasion

Finalement la mouillabilité, propriété physico-chimique de la surface de l'implant, a été évaluée grâce à la mesure d'angles de goutte avec l'appareil *Digidrop* (GBX) (Figure II-8a).

Pour cela un minimum de 30 gouttes d'eau ultrapure ont, dans un premier temps, été déposées sur des cales (Figure II-8b) ayant subis les différents traitements de surface. Les résultats sont reportés dans le Tableau II-3. Il apparait que la mouillabilité augmente avec les traitements de surface réalisés. En effet, la mouillabilité d'un échantillon usiné possède l'angle de goutte le plus élevé (75 ± 7 °) et donc la plus faible mouillabilité. L'étape de sablage entraîne une diminution de l'angle de contact (50 ± 15 °). Enfin, la différence de mouillabilité entre la surface sablée et celle sablée et mordancée est négligeable compte tenu de l'écart-type associé à ces mesures.

Des essais ont également été réalisés avec du SBF *(Simulated Body Fluid)* comprenant les ions minéraux contenus dans les fluides biologiques, afin de mettre en lumière une possible influence des ions sur la mouillabilité. La composition du SBF est reportée dans le Tableau II-4 et les résultats de mesure d'angle de goutte obtenus sont présentés dans le Tableau II-3. Aucune différence significative n'est notée entre l'eau et le SBF pour un même traitement de surface compte tenu des écart-types associés à ces mesures.

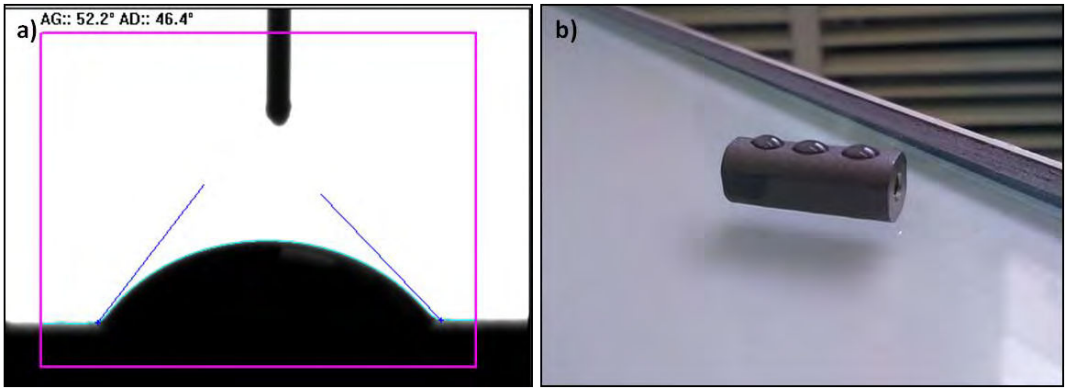


Figure II-8 : a) Photographie d'une goutte déposée sur une cale et mesure de l'angle et b) Photographie d'une cale sablée et mordancée (SLA) sur laquelle 3 gouttes ont été déposées

Tableau II-3 : Mesure de l'angle de goutte obtenue avec de l'eau et du SBF pour chaque traitement de surface

	Traitements de surface		
	M	**SL**	**SLA**
Angle de goutte - eau (°)	75 ± 7	50 ± 15	39 ± 15
Angle de goutte - SBF (°)	72 ± 6	41 ± 8	41 ± 6

Tableau II-4 : Composition ionique du SBF

Ions	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HCO_3^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}
Concentration (mmol/L)	142,0	5,0	1,5	2,5	147,0	4,2	1,0	0,5

Pour aller plus loin, l'énergie de surface aussi appelée tension de surface et correspondant à l'énergie nécessaire pour accroitre la surface de l'interface de 1 m^2 a été quantifiée pour chaque type de surface. L'équation d'Young met en relation l'angle de contact d'un point triple et les tensions superficielles des trois interfaces : solide/gaz γ_{SV}, solide/liquide γ_{SL}, liquide/gaz γ_{LV} comme représenté sur la Figure II-9. Il est alors possible d'écrire l'équation suivante :

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} * \cos(\theta) \quad \text{(II.1)}$$

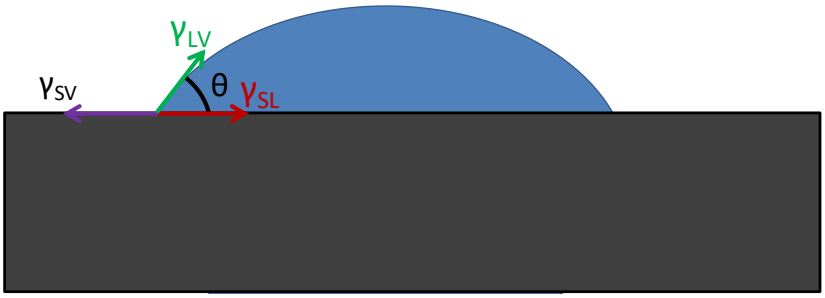


Figure II-9 : Schéma représentant l'angle de contact entre une goutte liquide et la surface d'un substrat ainsi que les tensions superficielles solide/vapeur (γ_{SV}), solide/liquide (γ_{SL}) et liquide/vapeur (γ_{LV})

Dans la pratique, seul l'angle de contact θ et la tension de surface du liquide γ_{LV} sont mesurables. Il est alors possible d'obtenir la tension γ_{SV} à partir de modèles théoriques comme celui d'*Owens et Wendt* qui définit la tension de surface d'un solide γ_{SV} comme la somme de deux composantes : une polaire et une dispersive et permet d'écrire [153] :

$$\gamma_{SV} = \gamma_S^d + \gamma_S^p \quad \text{(II.2)}$$

Où γ_{SV}^d est une composante dispersive provenant des interactions de *London-Van der Waals* et γ_{SV}^p une composante polaire (non dispersive) due aux contributions des interactions de *Keesom*, de *Debye* et des interactions acide/base.

D'après le modèle d'*Owens-Wendt*, il est possible d'écrire [154] :

$$\gamma_L * (1 + \cos\theta) = 2\sqrt{\gamma_L^d \gamma_S^d} + 2\sqrt{\gamma_L^p \gamma_S^p} \quad \text{(II.3)}$$

Les composantes dispersive et polaire pour la phase liquide sont connues alors que celles de la phase solide sont à déterminer. Il est alors possible de les établir grâce aux mesures d'angle de goutte utilisant au moins deux liquides. Dans notre cas nous utiliserons l'eau, l'éthylène glycol et le diiodométhane. Les composantes dispersive et polaire de ces liquides sont reportées dans le Tableau II-5. Les angles de goutte sont mesurés à l'aide des différents liquides et sur tous les types de substrat. Puis, en réorganisant l'équation d'*Owens Wendt* il est possible par une résolution graphique d'obtenir γ_S^d et γ_S^p. En effet, il est possible d'écrire à partir de l'équation (II.3) précédente :

$$\frac{\gamma_L * (1 + \cos\theta)}{2\sqrt{\gamma_L^d}} = \sqrt{\gamma_S^d} + \frac{\sqrt{\gamma_L^p}}{\sqrt{\gamma_L^d}}\gamma_S^p \qquad \text{(II.4)}$$

Via une régression linéaire de la forme y = ax+b (Figure II-10) et en posant :

$$y = \frac{\gamma_L * (1 + \cos\theta)}{2\sqrt{\gamma_L^d}} \qquad \text{(II.5)} \qquad \text{et} \qquad x = \frac{\sqrt{\gamma_L^p}}{\sqrt{\gamma_L^d}} \qquad \text{(II.6)}$$

Il est alors possible d'obtenir $\gamma_S^p = a^2$ et $\gamma_S^d = b^2$ et donc $\gamma_S = \gamma_S^p + \gamma_S^d$. Ces résultats sont reportés dans le Tableau II-6 pour tous les types de substrat. Cette caractérisation plus approfondie corrobore les premiers résultats obtenus avec l'eau et le SBF car l'énergie de surface des surface sablées (SL) et sablées et mordancées (SLA) respectivement égales à 56 ± 2 et 60 ± 3 mN/m sont nettement supérieures à celle d'une surface usinée (37 ± 2 mN/m), impliquant alors une surface plus mouillable. Encore une fois, aucune différence notable en terme d'énergie de surface n'existe entre les surfaces SL et SLA.

Tableau II-5 : Valeurs des différentes composantes des liquides utilisés dans la mesure de l'énergie de surface [155], [156]

Liquide	γ_L(mN/m)	γ_L^p (mN/m)	γ_L^d (mN/m)
Eau	72,8	51,0	21,8
Ethylène glycol	48,3	19,0	29,3
Diiodométhane	50,8	0	50,8

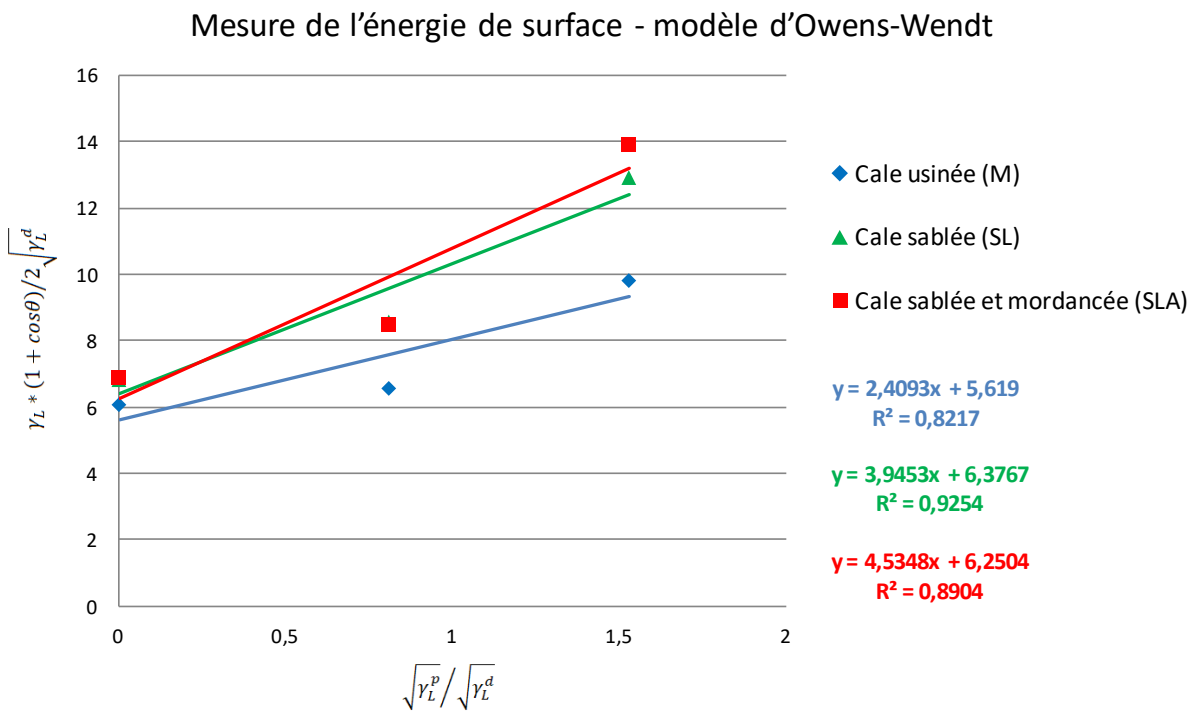


Figure II-10 : Graphique permettant de calculer l'énergie de surface des substrats usiné (M), sablé (SL) et sablé mordancé (SLA) d'après le modèle d'Owens Wendt

Tableau II-6 : Valeurs des composantes polaire et dispersive et de l'énergie de surface des substrats usiné (M), sablé (SL) et sablé mordancé (SLA)

	Traitements de surface		
	M	**SL**	**SLA**
γ_S^p **(mN/m)**	6 ± 1	16 ± 1	21 ± 2
γ_S^d **(mN/m)**	32 ± 1	41 ± 1	39 ± 2
γ_S**(mN/m)**	38 ± 2	57 ± 2	60 ± 4

Cette mouillabilité plus importante observée pour les échantillons sablés (SL) et sablés et mordancés (SLA) peut provenir du changement de la rugosité par rapport aux échantillons usinés (M) ou bien à cause de la présence d'alumine en surface car aucune autre différence au niveau de la composition chimique de surface n'a été observée par analyse EDX et XPS pour les trois types d'échantillon M, SL et SLA. Il est donc difficile de conclure clairement sur la raison menant à une augmentation de la mouillabilité pour les échantillons sablés (SL) et sablés et mordancés (SLA). L'augmentation de cette mouillabilité semble néanmoins être un point positif pour l'ostéointégration des implants. De plus, cette dernière ainsi que la rugosité de surface observée présentent des avantages lors de l'utilisation de procédés de revêtement utilisant la voie aqueuse comme les procédés d'immersions successives ou d'électrodéposition mis en œuvre dans ce travail de thèse. En

effet, cette bonne mouillabilité permet un contact accru entre la surface de l'implant et la solution pouvant mener à un recouvrement plus homogène de la surface de l'implant par le revêtement. La rugosité, quant à elle, pourrait favoriser l'accroche mécanique du revêtement au subtrat.

Afin d'améliorer encore cette mouillabilité, des essais utilisant un rayonnement ultraviolet ont été menés. En effet, comme décrit dans la partie I-6-2, il est possible de nettoyer la surface des implants en titane grâce à la propriété photocatalytique du TiO_2 présent à sa surface et identifié ici par XPS [157]–[159]. En effet, l'effet photocatalytique du TiO_2 sous rayonnement UV permet de minéraliser les composés organiques se trouvant en surface et ainsi améliorer la mouillabilité de la surface de l'implant. Cela s'appelle la photo-fonctionnalisation. Pour cela, les cales sont irradiées par une lampe UV ayant une longueur d'onde de 185 nm et pendant un temps variable. L'angle de goutte réalisée avec de l'eau ultrapure est ensuite rapidement mesuré. La Figure II-11 montre l'évolution de la mouillabilité de surface des échantillons M, SL et SLA en fonction du temps d'ozonation. Il est possible d'observer une nette augmentation de celle-ci, traduit par une diminution de l'angle de contact, pour tous les types d'échantillons et l'apparition d'un palier après 10 minutes d'exposition. En effet, l'angle de goutte diminue d'environ 51 % pour une cale M, de 54 % pour une cale SL et de 26 % pour une cale SLA après 10 minutes d'exposition. Ce traitement mène alors à une augmentation de la mouillabilité ayant les avantages décrits précédemment dans le cas de notre étude utilisant des procédés en voie aqueuse.

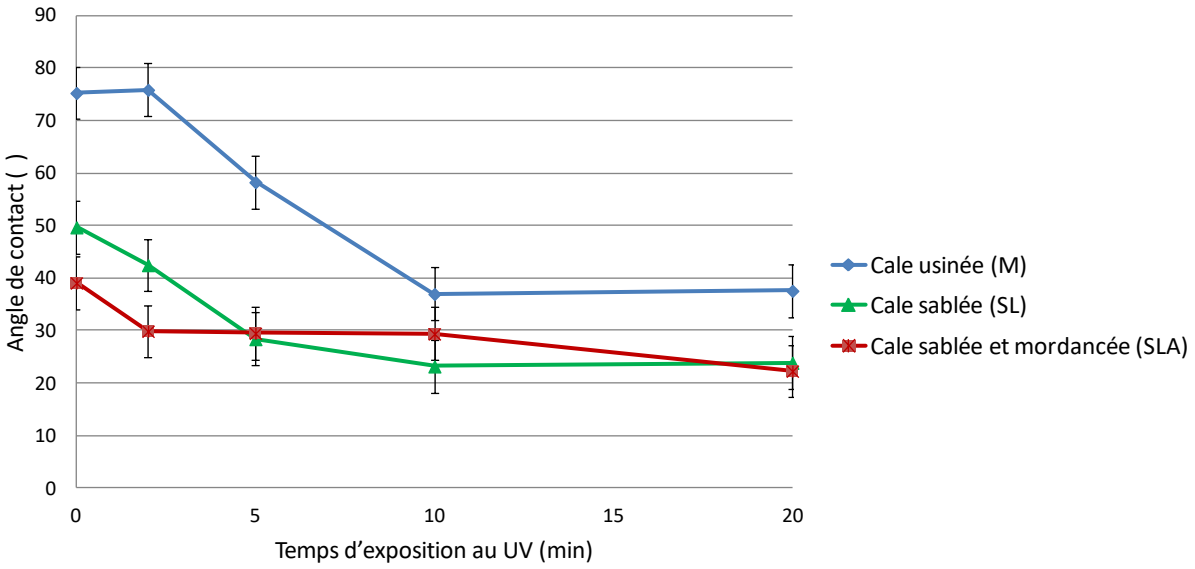


Figure II-11 : Graphique représentant l'évolution de la mouillabilité de surface en fonction du temps d'exposition à la lumière UV

Pour conclure cette étude, il a été observé que la rugosité ainsi que la mouillabilité augmentaient lors des différents traitements de surface appliqués en milieu industriel. Cela est un point positif pour l'ostéointégration des implants. Il faut également noter que la mouillabilité peut être améliorée via une exposition de la surface à un rayonnement ultraviolet. De plus, la présence de particules d'alumine enchâssées dans le substrat de titane a été mise en lumière. Il a été démontré que la germination des phosphates de calcium sur l'alumine est très limitée par rapport à celle sur le titane, à cause d'une mauvaise affinité des ions calcium et phosphate avec ce matériau [160]. Ces derniers points constituent la principale problématique de notre étude concernant la préparation de la surface des substrats en titane en vue de déposer un revêtement de phosphate de calcium par voie aqueuse. Il nous faut alors trouver un moyen d'éliminer au maximum ces particules d'alumine enchâssées et les essais menés dans ce but seront décrits par la suite.

Avant cela, un moyen de quantification des particules de corindon restant enchâssées à la surface des échantillons a été développé afin de comparer l'efficacité des nouveaux traitements de surface mis en place pour limiter la présence de corindon. L'alumine et le titane se distinguant bien au MEB en utilisant les électrons rétrodiffusés, un protocole d'analyse d'images a été développé afin de quantifier la proportion de surface du substrat recouverte par l'alumine. Cette méthode rapide est adaptée pour vérifier l'élimination significative de l'alumine restant en surface. Celle-ci se compose des étapes suivantes :

Etape 1 : Des images ayant une taille de 1026 × 836 pixels et une résolution de 205 dpp (point par pouce) ont été réalisées par MEB en mode électrons rétrodiffusés (Figure II-12a) en utilisant des paramètres identiques à savoir le grossissement, la luminosité, le contraste, une tension d'accélération de 15 keV et un courant de sonde de 1500 pA. A noter que le grossissement de l'image doit tout de même être adapté au nombre d'objets présents. En effet, plus la surface comprend des particules d'alumine plus le grossissement au MEB est important (x500) alors que pour une surface avec peu d'alumine un grossissement à x100 est réalisé.

Etape 2 : Le logiciel *ImageJ* a ensuite été utilisé afin de réaliser un seuillage manuel et une binarisation (Figure II-12b).

Etape 3 : Une mesure automatique du pourcentage de la surface « noire » par rapport à la surface totale est réalisée par le logiciel. Il faut noter qu'un travail préliminaire statistique a été effectué afin d'indiquer une condition d'exclusion au logiciel car la rugosité des échantillons peut interférer avec la mesure à cause du bruit résiduel créé par celle-ci (Figure II-12b). Une limite de 25 pixels a été fixée

afin de ne pas écarter les grains d'alumine les plus petits mais de s'affranchir de ce bruit (Figure II-12c).

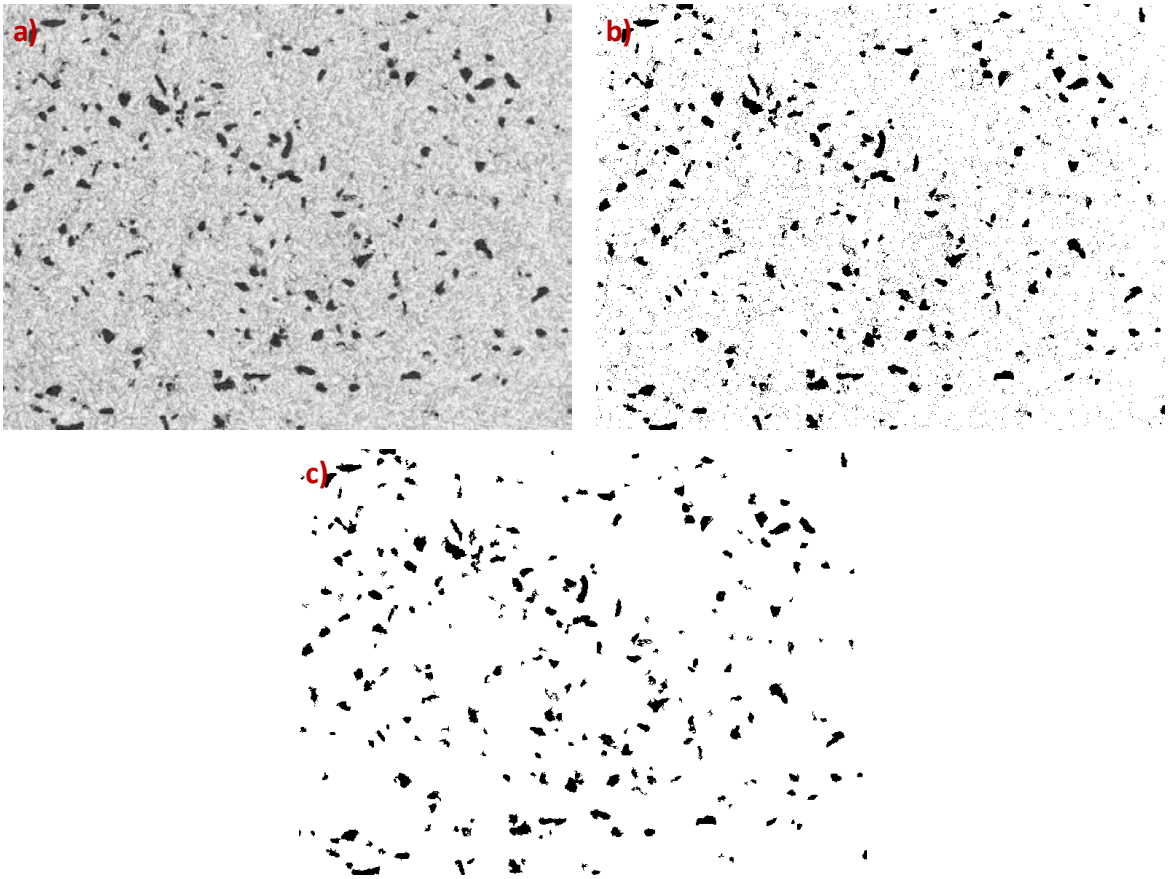


Figure II-12 : Images obtenues à différentes étapes du traitement de l'image pour la quantification de l'alumine enchâssée à la surface du substrat en titane. a) micrographies MEB en électrons rétrodiffusés ; b) image après binarisation et c) masque obtenu des surfaces réellement prises en compte pour le calcul du rapport surface noire/surface totale

Un échantillon a été sablé avec la sableuse industrielle utilisée dans cette étude suivant des paramètres extrêmes, à savoir 5 bars pendant 40 secondes, puis mordancée. Grâce à la méthode d'analyse d'images décrite précédemment, la proportion surfacique d'alumine enchâssée a été mesurée à 47 ± 3 %. Ce taux d'enchâssement étant élevé dans ces conditions, des études seront menées afin de limiter celui-ci, tout en conservant une rugosité de surface optimale.

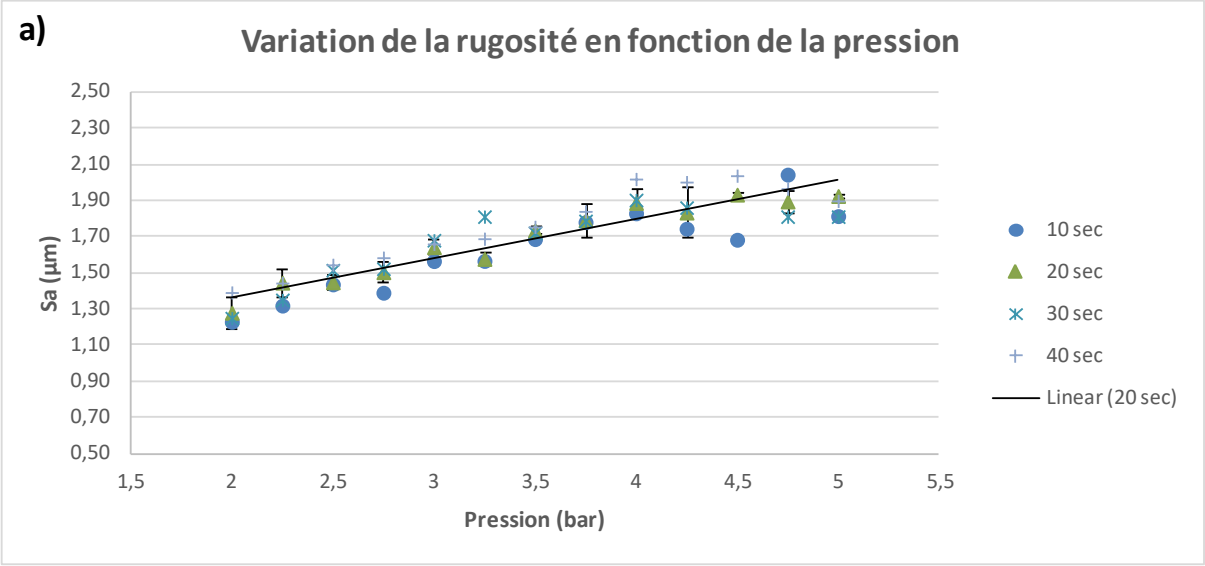
II-3. Etude des paramètres de sablage

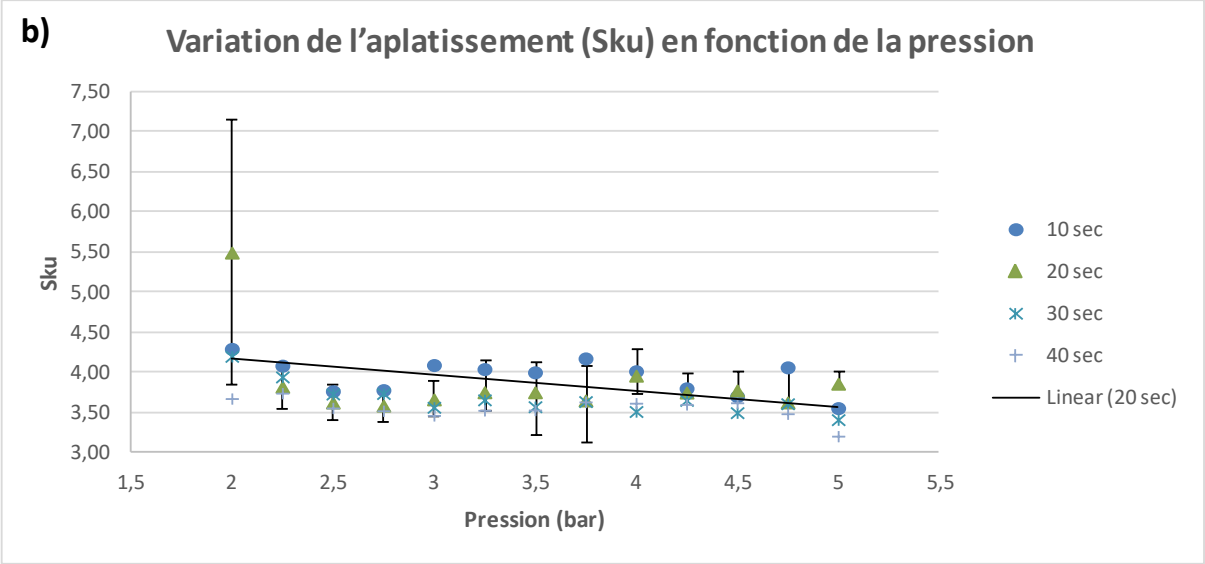
Nous avons réalisé une étude des paramètres de sablage tels que la pression et le temps en vue d'analyser leur influence sur la rugosité obtenue. Comme décrit dans la partie I-3-1, une rugosité moyenne arithmétique comprise entre 1 et 2 µm favorise l'ostéointégration et c'est la raison pour laquelle nous favoriserons l'obtention d'une rugosité dans cette gamme pour les implants étudiés.

Des cales ont alors été sablées durant des temps (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 s) et des pressions (2 ; 2,25 ; 2,5 ; 2,75 ; 3 ; 3,25 ; 3,5 ; 3,75 ; 4 ; 4,25 ; 4,5 ; 4,75 ; 5 bars) variables.

Les paramètres de rugosité ont été mesurés par microscopie interférométrique comme précédemment décrit. Seule la rugosité moyenne arithmétique (Sa), l'aplatissement (Sku) et l'asymétrie (Ssk) de la surface seront présentés ici. En effet, la rugosité moyenne quadratique (Sq) ainsi que la hauteur maximale entre pic et vallée (Sz) évoluent de la même manière que la rugosité moyenne arithmétique (Sa).

Dans un premier temps, il est possible d'observer que plus la pression augmente, plus la rugosité augmente. Cela est représenté par la droite de régression linéaire sur la Figure II-13a tracée pour un temps de sablage de 20 secondes. Cela parait logique car les particules d'alumine arrivant sur la surface du titane auront une énergie cinétique plus importante et pourront alors déformer la surface et enlever davantage de titane afin de créer une rugosité plus importante. De plus, l'aplatissement (Sku) est également supérieur à 3 pour toutes les conditions même si les valeurs tendent à se rapprocher de 3 (Figure II-13b). Ce résultat a précédemment été observé pour les cales sablées (SL) et sablées mordancées (SLA) ; traduisant alors la présence de pics affutés et non arrondis. Aussi, hormis pour un point à 2 bars, la valeur de l'asymétrie du profil (Ssk) est toujours négative (Figure II-13c). Ce résultat est également semblable à celui obtenu pour les cales sablées (SL) et sablées et mordancées (SLA) et reflète une surface comprenant des pores ou des rayures. Il faut noter qu'un écart-type important est obtenu pour les valeurs de Ssk et Sku pour la surface sablée obtenue avec la pression la plus faible (2 bars). Ceci peut provenir du fait que la régulation à pression basse étant plus difficile, la densité de particules arrivant sur l'échantillon n'est pas toujours constante impliquant alors une variabilité de la rugosité. La pression de sablage ne semble donc pas avoir d'influence hormis sur la rugosité arithmétique moyenne qui augmente en même temps que celle-ci et qui, avec les paramètres choisis, est toujours comprise entre 1 et 2 µm conformément au cahier des charges. Cependant l'utilisation de pression de sablage importante est souhaitable afin d'obtenir une rugosité de surface conforme et répétable qui sera certainement réduite par la suite lors de l'étape de mordançage. Les pressions les plus élevées mènent à une valeur de rugosité d'environ 2 µm, valeur haute de la gamme désirée. Une pression intermédiaire comprise entre 3 et 4,5 bars, permettant d'obtenir une rugosité comprise entre 1,5 et 2 µm en fonction du temps de sablage, est alors utilisée pour la suite de l'étude.





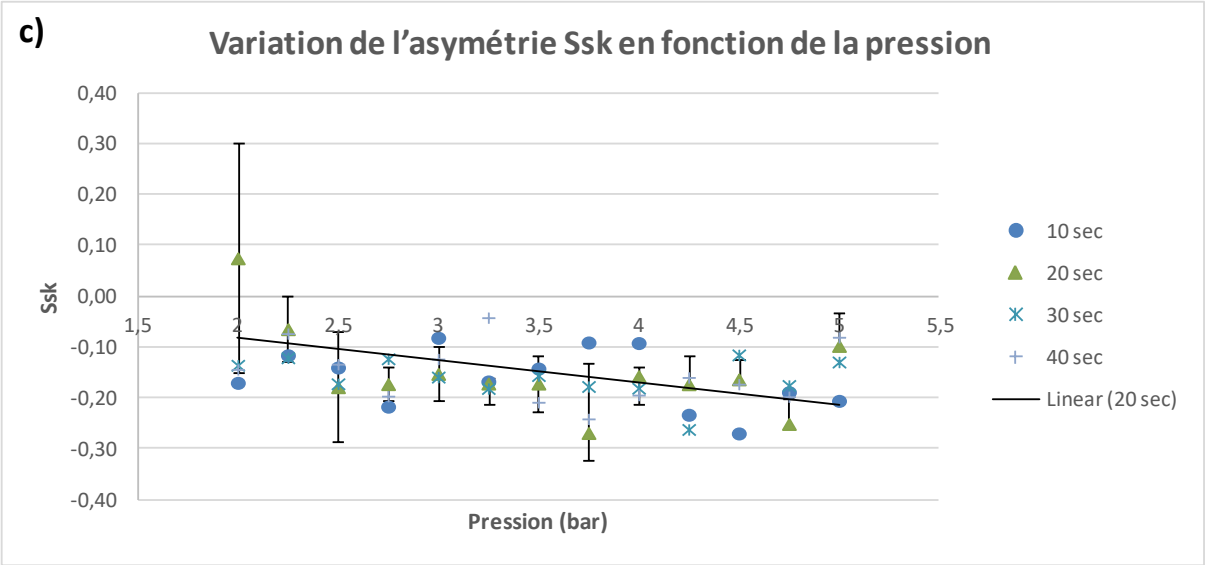


Figure II-13 : Courbes représentant l'évolution des paramètres de rugosité en fonction de la pression appliquée lors du sablage : a) Evolution de la rugosité moyenne arithmétique (Sa) ; b) Evolution de l'aplatissement du profil (Sku) et c) Evolution de l'asymétrie du profil (Ssk)

Ensuite l'effet du temps de sablage, compris entre 5 et 55 s, sur la rugosité pour une pression fixée dans la gamme 3 – 4,5 bars a été analysé.

Il est possible d'observer sur la Figure II-14 que cette rugosité a tendance à augmenter avec le temps jusqu'à atteindre 2 µm pour des temps de sablage supérieurs à 30 secondes. Cette rugosité semble passer tout de même par des maxima et minima sous la forme d'un cycle. En effet, la rugosité obtenue après 30 secondes de sablage est inférieure à celle observée par un sablage plus court. Celle-ci augmente à nouveau par la suite pour diminuer une nouvelle fois à 55 secondes. Il est en effet possible d'imaginer qu'un temps optimal peut être obtenu car le temps de sablage peut influer sur la création et la destruction de la rugosité. Au début du sablage la surface est lisse et plus le temps avance plus la rugosité va être créée en entaillant le titane ce qui va conduire à une surface avec des pics. Ces pics peuvent ensuite être endommagés et lissés par un temps de sablage plus long. Ceci pourrait permettre d'expliquer cette allure cyclique obtenue sur la courbe représentant l'évolution de la rugosité moyenne arithmétique. Il faut également noter que pour toutes les autres pressions (2 – 5 bars), ce même phénomène a été observé.

Les écart-types associés aux valeurs de l'asymétrie (Ssk) et de l'aplatissement (Sku) de la surface ne permettent pas de corroborer la présence d'un cycle (Figure II-14b et c). Cependant, on retrouve les résultats précédents. En effet, Sku est toujours supérieur à 3 et tend à décroitre. Ceci traduit un élargissement de la distribution des hauteurs confirmant l'hypothèse qu'un temps long de sablage semble arrondir les pics précédemment créés. Ssk, quant à lui, est toujours négatif et traduit une surface comportant des pores. Pour les temps de 15 et 50 secondes, la valeur de Ssk se rapproche de 0 traduisant une quasi-symétrie dans la distribution des hauteurs.

Afin d'optimiser le temps de sablage il semble logique de se positionner sur le premier plateau de rugosité obtenu entre 10 et 30 secondes de sablage. De plus, des temps plus longs de sablage conduisent à des rugosités plus élevées (≅ 2 µm) représentant la limite haute de notre cible à atteindre.

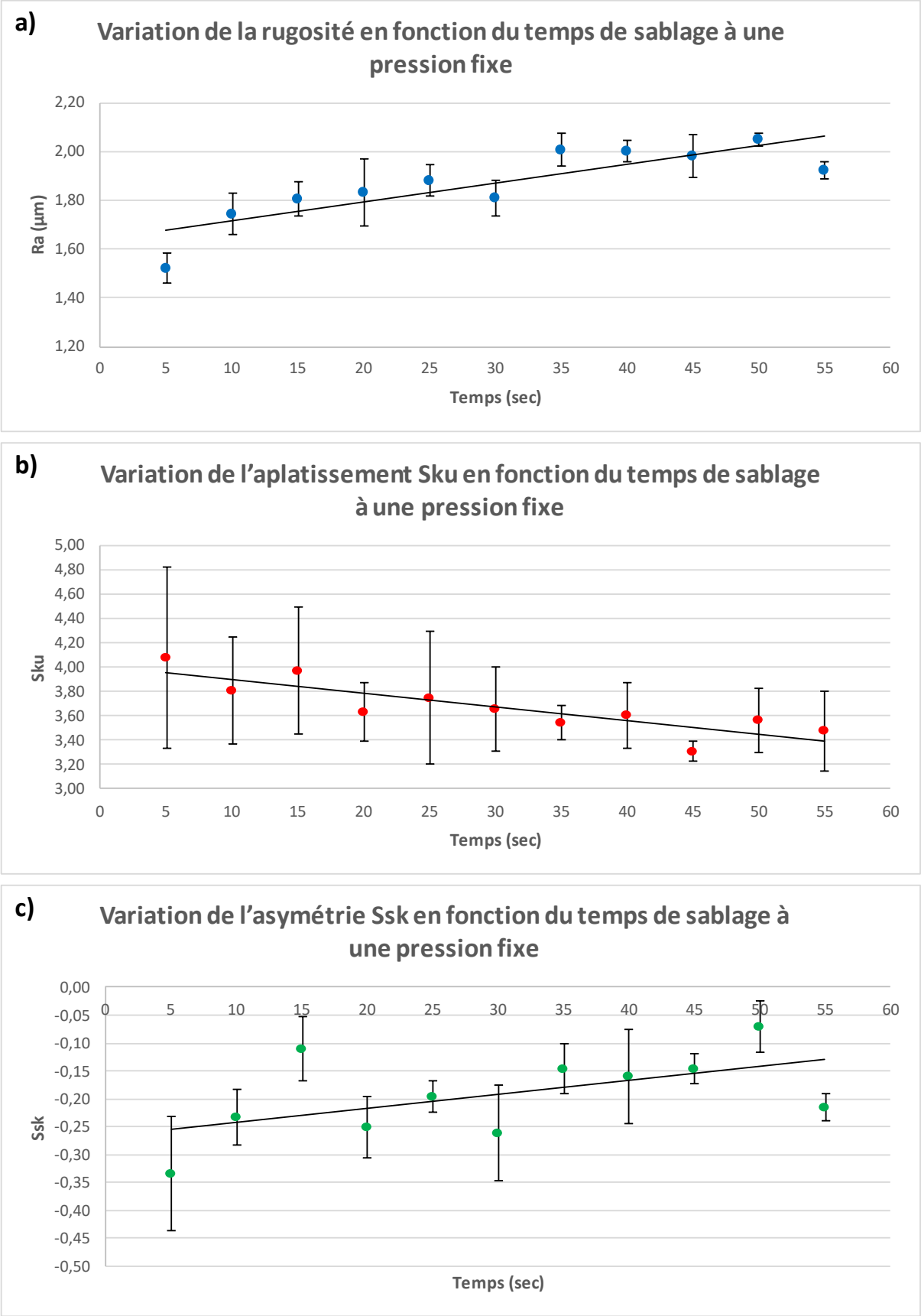


Figure II-14 : Courbes représentant l'évolution des paramètres de rugosité en fonction du temps de sablage pour une pression fixée

Pour conclure cette étude, la pression semble être le paramètre influençant le plus la rugosité finalement obtenue. Les échantillons utilisés dans la suite de ce travail seront donc sablés suivant des paramètres optimaux, compris entre 3 et 4,5 bars pour la pression et 10 et 30 secondes pour le temps. Les valeurs précises ne seront pas citées afin de préserver la confidentialité.

Avec ces paramètres, une surface présentant une rugosité moyenne arithmétique comprise entre 1,5 et 2 µm et ayant un Ssk inférieur à 0 et un Sku supérieur à 3 est obtenue.

Après avoir fixé les paramètres de sablage, nous nous sommes intéressés au problème d'enchâssement de l'alumine dans le substrat en titane précédemment mis en évidence.

Plusieurs techniques ont été examinées afin d'éliminer les particules de sablage enchâssées dans le substrat de titane.

Un soufflage intense juste après sablage a été réalisé mais aucun changement n'a réellement été observé.

Un double sablage a été mis en œuvre se composant dans un premier temps d'un sablage avec de grosses particules puis d'un sablage avec de plus petites particules de corindon. Ces dernières permettraient d'enlever les premières enchâssées. Pour cela des poudres de corindon de granulométrie F40, F54, F80 et F100 correspondant à des diamètres moyens de 438, 310, 185 et 129 µm respectivement ont été utilisées [161]. Des essais préliminaires de sablage simple ont été réalisés avec toutes ces particules à 4 bars, pression intermédiaire de la gamme de pression étudiée, et à 2 bars, pression la plus faible pouvant être mise en œuvre avec la sableuse. La rugosité moyenne (Ra) des échantillons traités a été mesurée grâce au profilomètre mécanique disponible dans l'entreprise ; elles sont reportées dans le Tableau II-7. Il est d'ores et déjà possible d'éliminer des paramètres menant à une rugosité trop élevée à savoir les sablages réalisés avec le F40, le F54 ainsi que celui réalisé avec le F80 à 4 bars. Cependant, ces rugosités pourraient être diminuées grâce au second sablage ; différentes combinaisons en terme de granulométrie et de pression de sablage ont alors été mises en œuvre. Les rugosités obtenues (Tableau II-7) indiquent que les combinaisons F40 puis F100, F54 puis F100 et F80 puis F100, à 4 puis à 4 bars ainsi qu'à 2 puis 4 bars, peuvent être retenues afin d'obtenir une rugosité dans la gamme souhaitée (1 – 2 µm). Par la suite des clichés MEB de ces échantillons ont été réalisés en mode électrons rétrodiffusés (Figure II-15) et la méthode d'analyse d'images décrite précédemment a été apliquée. Les résultats montrent alors que pour toutes ces conditions de double sablage, le pourcentage de la surface de titane recouverte par l'alumine est toujours supérieur à 40 %. Ce double sablage, étudié ici afin de limiter le taux d'enchassement de l'alumine, ne permet donc pas de réduire considérablement la quantité d'alumine enchâssée à la surface du substrat.

Tableau II-7 : Evolution de la rugosité moyenne arithmétique Ra (en µm) en fonction de la granulométrie de corindon utilisé et du mode de sablage (simple - 1er tableau ou double - 2ième tableau) à différentes pressions

Granulométrie \ Pression (bar)	2	4
F 40	2,5 ± 0,2	3,7 ± 0,4
F 54	2,22 ± 0,09	2,8 ± 0,2
F 80	1,40 ± 0,03	2,03 ± 0,07
F 100	1,29 ± 0,09	1,7 ± 0,1

Granulométrie \ Pression (bar)	4 puis 4	2 puis 4
F 40 puis F 54	2,96 ± 0,05	2,84 ± 0,04
F 40 puis F 100	1,8 ± 0,1	1,70 ± 0,08
F 54 puis F 100	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,1
F 80 puis F 100	1,78 ± 0,09	1,62 ±0,08

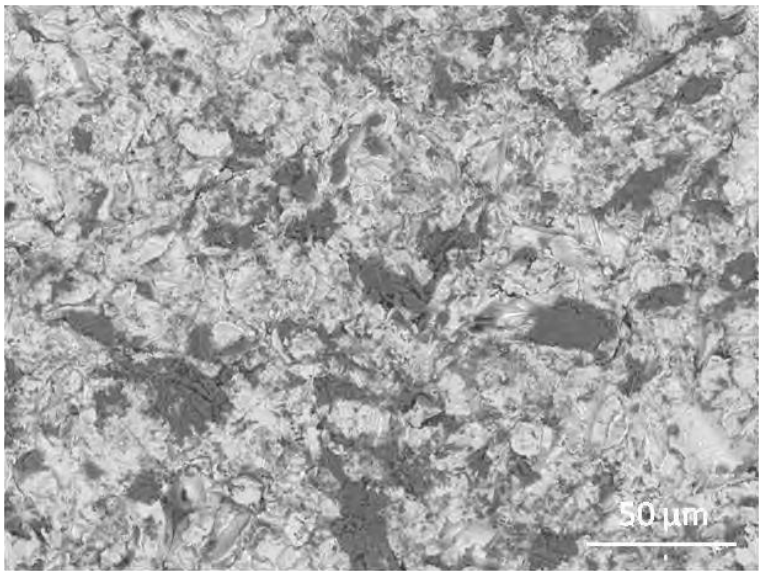


Figure II-15 : Micrographie MEB réalisée en mode électrons rétrodiffusés d'une surface sablée avec du corindon F54 à 2 bars puis F100 à 4 bars où les particules de corindon enchâssées correspondent aux tâches sombres

II-4. Mis au point d'un protocole de mordançage

Finalement, un protocole d'attaque acide a été développé. Le choix des acides s'est porté sur l'acide surlfurique (H_2SO_4) et l'acide chlorhydrique (HCl). Dans un premier temps des essais seront menés avec chaque acide séparément. Par la suite, des mélanges de ces derniers avec de l'eau seront utilisés comme solution de mordançage car ce type de mélange est largement décrit dans la littérature [162], [163]. De plus, cela évite l'utilisation de l'acide fluorhydrique (HF) nécessitant des conditions de manipulation réglementées en laboratoire comme en milieu industriel. Différents essais ont alors été menés avec des concentrations, temps d'immersion et températures de bain variables.

Pour cela, l'attaque a été réalisée grâce à un montage au bain marie où un bécher contenant le mélange d'acides souhaité est placé au centre d'un plus grand récipient rempli d'eau. L'ensemble est porté à la température désirée à l'aide d'une plaque chauffante. Le réglage de la température est réalisé grâce à une sonde de température reliée à la plaque chauffante et insérée dans l'eau du bain marie. Une agitation est mise en place dans le bain d'acide lors du préchauffage. Enfin, après vérification de la température du bain d'acide grâce à une sonde de température externe et arrêt de l'agitation, les échantillons sont immergés dans la solution acide. Il faut noter que les différents échantillons sont placés sur un support inerte vis-à-vis des acides grâce aux trous borgnes présents sur ceux-ci. Dix échantillons sont attaqués dans 100 mL de bain d'acide(s), quantité suffisante pour recouvrir la totalité de leur surface. Le montage est présenté par la Figure II-16. Après un temps donné, l'attaque acide est stoppée en retirant les échantillons du bain acide et en les immergeant dans une solution basique de bicarbonate de sodium (40 g/L). Un deuxième bain de bicarbonate est également employé et placé aux ultrasons afin de faire pénétrer correctement la solution de bicarbonate dans les micropores créés par l'attaque acide et de retirer toutes traces d'acide. Les échantillons sont ensuite successivement lavés dans deux bains d'eau de ville, deux bains d'eau déminéralisée et un bain d'éthanol. Tous ces bains se déroulent sous ultrasons pendant une durée de 5 minutes. Les échantillons sont ensuite placés à l'étuve à 60 °C pour séchage. La séquence de bains de lavage a été optimisée après l'observation d'échantillons bicolores où des traces d'acide semblaient toujours présentes.

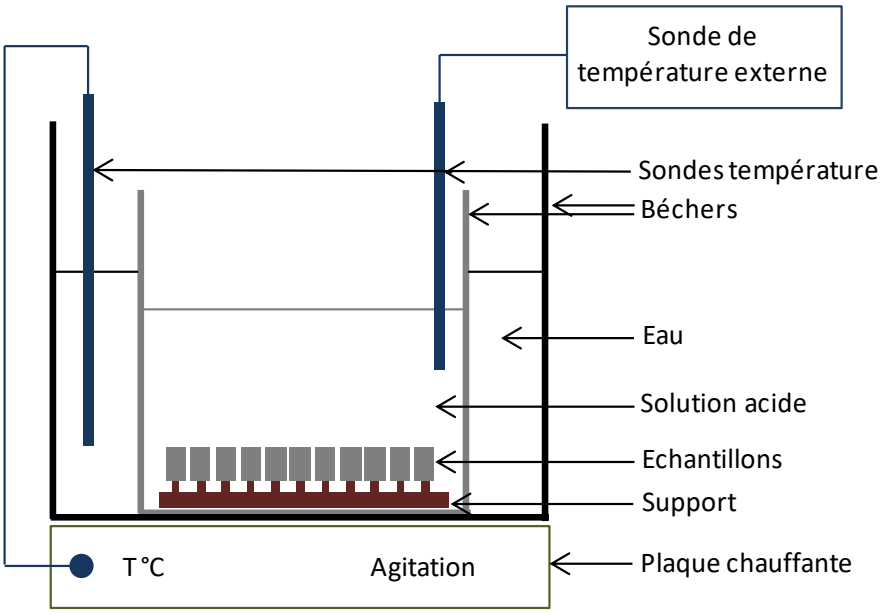


Figure II-16 : Schéma du montage permettant de réaliser les attaques acides des substrats en titane (mordançage)

Les essais qui vont suivre ont été réalisés dans un premier temps sur des cales et implants afin de choisir les conditions optimales avant d'être transposées sur pions.

Des essais préliminaires ont été réalisés à température ambiante durant 5, 10, 20, 30 et 60 minutes en utilisant soit de l'acide chlorhydrique (HCl 37% *Normapur VWR*) soit de l'acide sulfurique (H_2SO_4 98% *Merck*). Il est alors possible d'observer au MEB qu'après 5 ou 60 minutes d'attaque à l'acide sulfurique (Figure II-17a et b), la surface est semblable à celle initiale sablée uniquement. L'acide sulfurique seul ne semble donc pas attaquer les échantillons à température ambiante même pour une durée de traitement longue. La surface sablée puis attaquée à l'acide chlorhydrique ne montre, quant à elle, aucun signe d'attaque après 5 minutes d'immersion (Figure II-17c) mais l'attaque commence à partir de 30 minutes, temps au bout duquel des pores apparaissent (Figure II-17d). Elle est très marquée après 1 heure de traitement (Figure II-17e). Il faut noter que les échantillons plongés dans l'acide chlorhydrique ressortent plus foncés à l'œil nu que les échantillons sablés ou ceux plongés dans l'acide sulfurique.

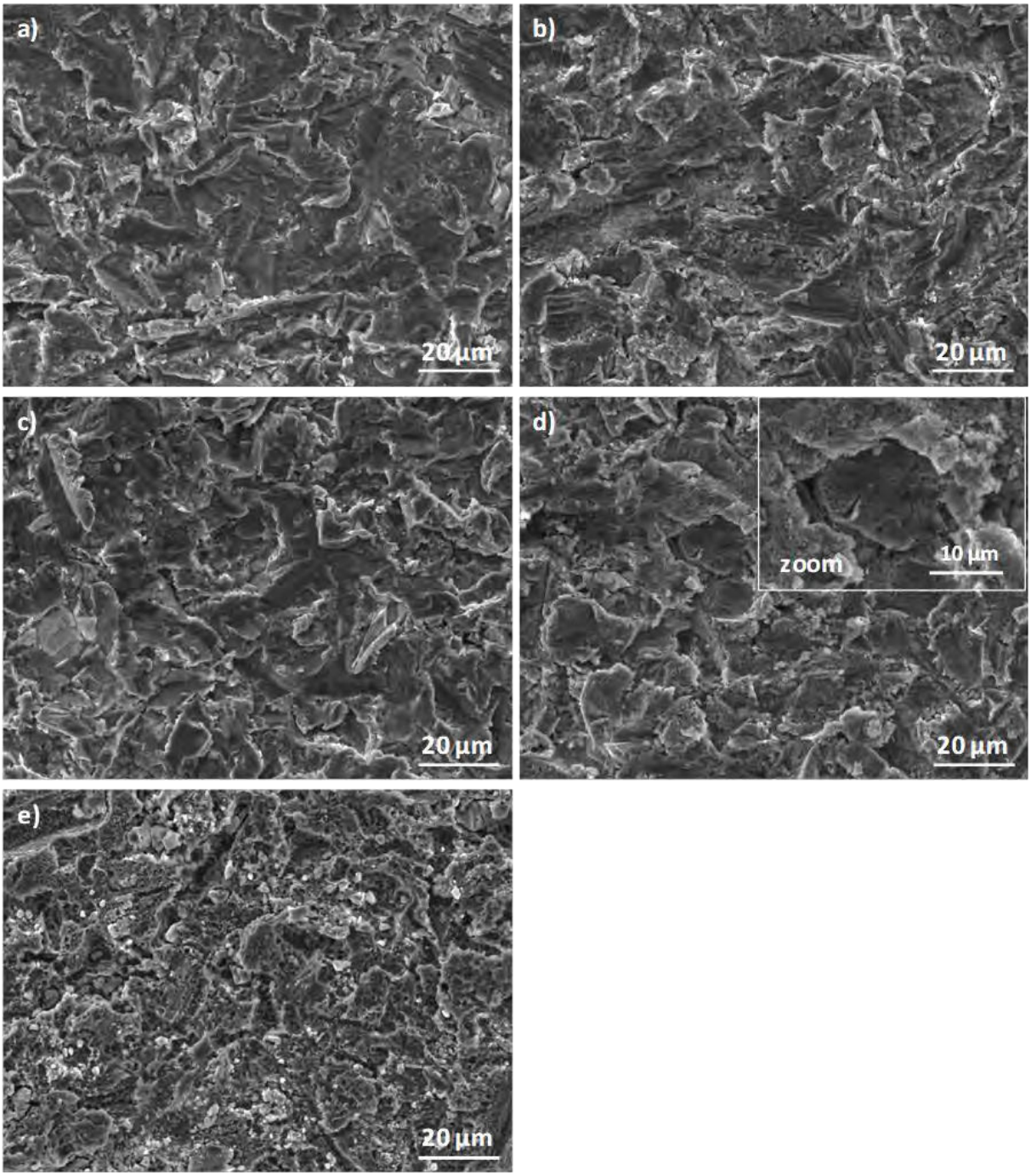


Figure II-17 : Micrographies MEB d'une surface sablée attaquée avec : a) H_2SO_4 durant 5 min; b) H_2SO_4 durant 60 min; c) HCl durant 5 min; d) HCl durant 30 min et e) HCl durant 60 min

Par la suite, un mélange d'acides sulfurique et chlorhydrique dilués dans l'eau en proportion volumique 2:2:1 a été préparé. Un essai préliminaire a été mené à température ambiante pendant 60 minutes. La surface est attaquée (Figure II-18a) mais la quantité de corindon restant enchâssée reste du même ordre de grandeur que précédemment observée (≅ 40 %) (Figure II-18b).

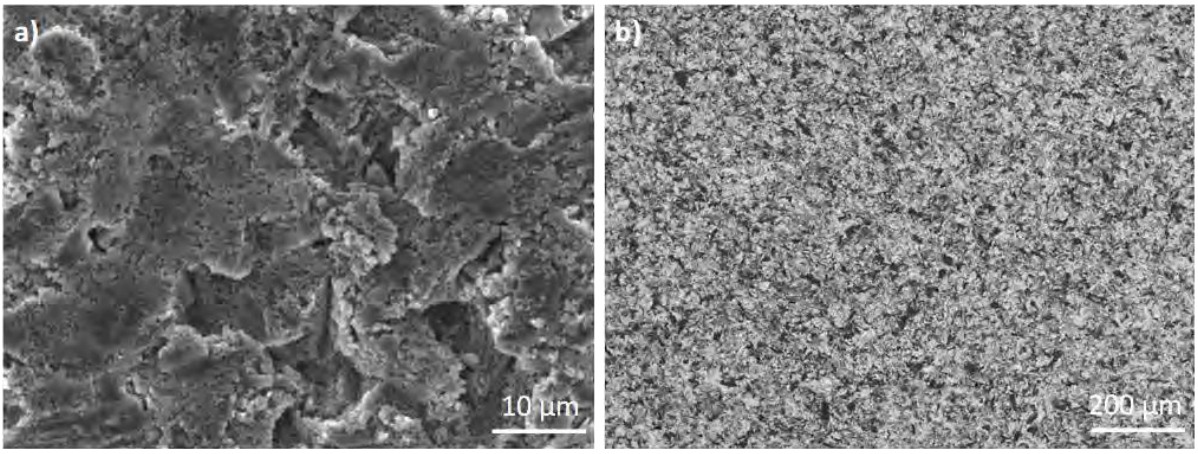


Figure II-18 : Micrographies MEB d'une surface sablée attaquée avec le mélange acide H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 2:2:1 (%v) durant 60 minutes à température ambiante : a) en électrons secondaires montrant la microstructure de la surface et b) en électrons rétrodiffusés démontrant la présence d'alumine (zones sombres) dans le titane (zones claires)

Des essais ont alors été réalisés avec le même mélange d'acides porté à une température de 80 °C pendant des temps compris entre 1 et 30 minutes. Il est possible d'observer sur la Figure II-19 que la température a un réel impact sur le phénomène d'attaque. En effet, une attaque est déjà visible après 1 minute d'immersion dans la solution acide (Figure II-19a). Les surfaces obtenues après 5 et 10 minutes d'attaque semblent attaquées comme voulu car la rugosité créée par le sablage est toujours visible et des micropores sont venus s'ajouter à celle-ci (Figure II-19b et c). Cependant, 20 et 30 minutes semblent être des temps d'attaque trop longs car un nouvel aplanissement de la surface est observé (Figure II-19d et e).

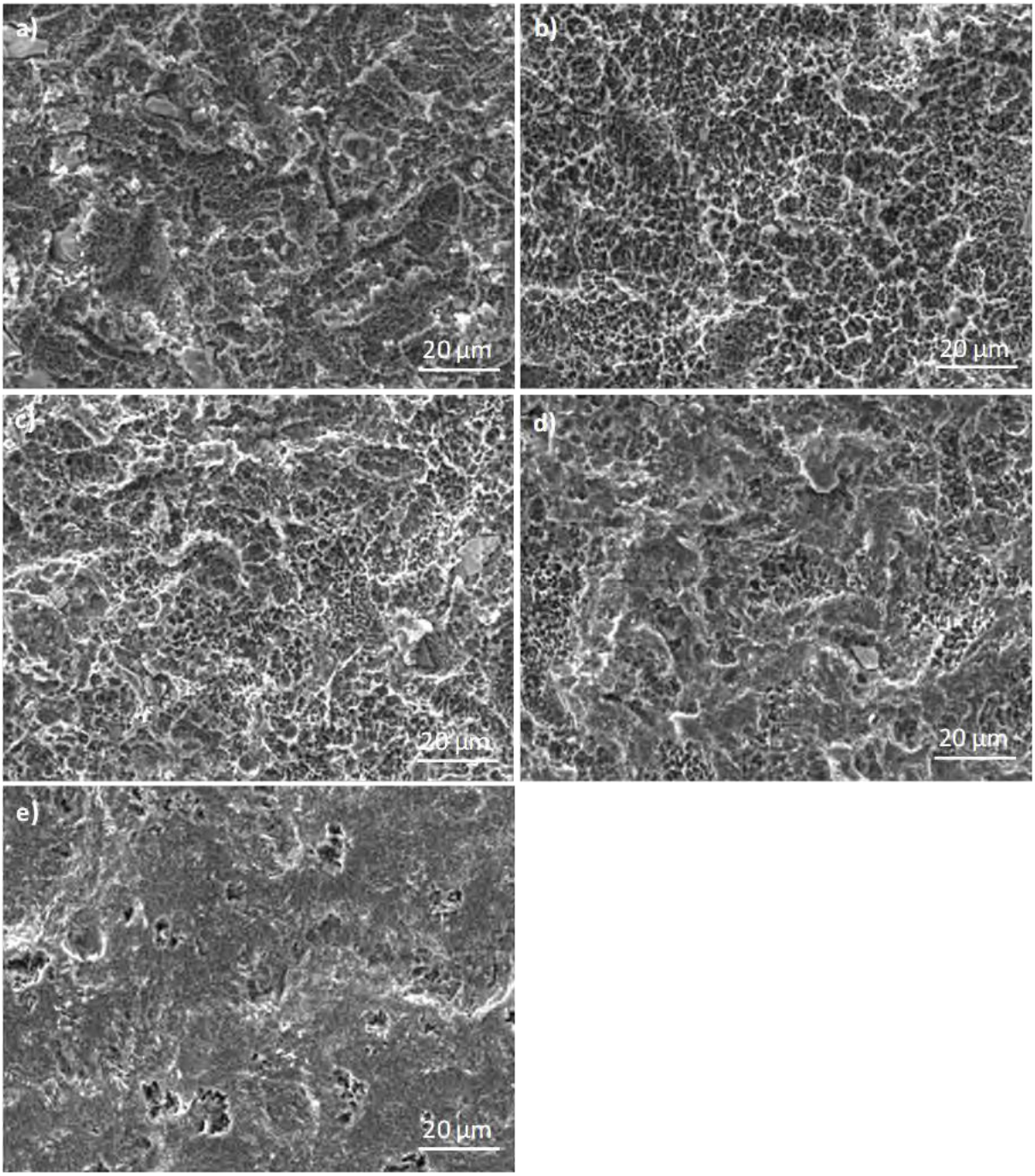


Figure II-19 : Micrographies MEB d'une surface sablée attaquée avec le mélange acide H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 2:2:1 (%v) à 80 °C pendant : a) 1 min; b) 5 min; c) 10 min: d) 20 min; e) 30 min

Suite à ces essais préliminaires et afin de pouvoir choisir la ou les meilleures conditions d'attaque acide, les critères suivants ont été établis :

1) La surface doit être suffisamment attaquée en comparaison à une surface uniquement sablée (Figure II-20a) et ne doit pas l'être trop au risque de supprimer la rugosité créée par le sablage (Figure II-20b). Ce critère est établi sur la base des seules observations au MEB.

2) Une diminution significative de la quantité d'alumine enchâssée doit être enregistrée. La quantification est réalisée par la méthode d'analyse d'images précédemment décrite dans la partie II-2.

Un dernier critère peut également être pris en compte concernant l'aspect visuel de l'échantillon. Celui-ci doit être le plus proche de la gamme actuelle du partenaire industriel, c'est-à-dire être clair.

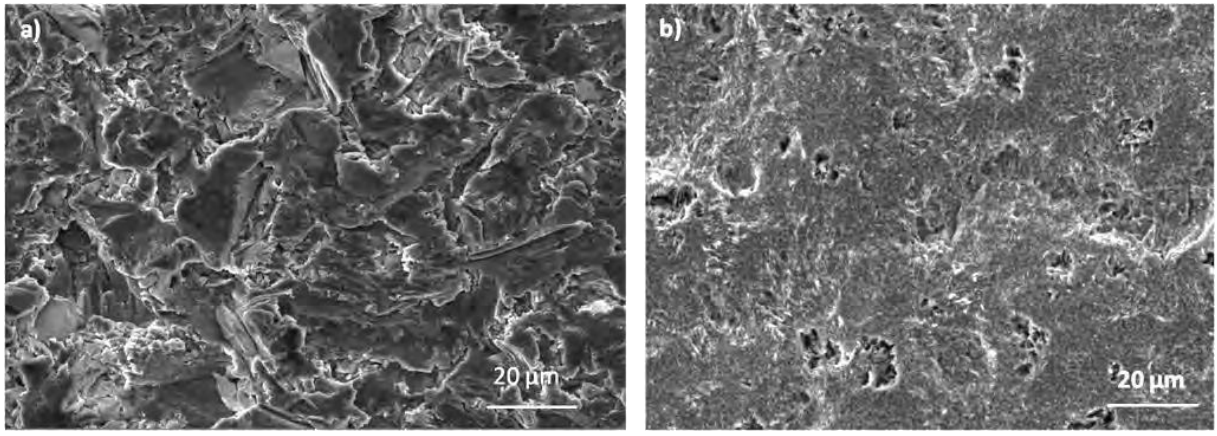


Figure II-20 : Micrographies MEB a) d'une surface de référence sablée uniquement (SL) et b) d'une surface lisse due à une attaque acide trop importante

Il faut noter que les échantillons obtenus suite à une étape de sablage et de mordançage avec le mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 2:2:1 (%v) sont foncés. Ce changement de couleur par rapport à la gamme standard commercialisée par l'industriel n'étant pas souhaité, un mélange acide utilisant une proportion plus faible d'acide chlorhydrique, présumé responsable de l'assombrissement des échantillons d'après les études préliminaires, a été réalisé. Un mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 3:1:1 (%v) a alors été préparé. Par la suite, une étude complète a été menée avec ces deux mélanges pour des températures (40, 60 et 80 °C) et des temps d'immersions (1, 3, 5, 10, 15 et 20 minutes) variables.

Pour revenir à nos critères de choix des attaques acides optimales, la première étape a été l'observation des surfaces attaquées au MEB. Le Tableau II-8 résume les résultats obtenus. En bleu sont présentés les paramètres pour lesquels les surfaces ne sont pas ou très peu attaquées. Les cases vertes correspondent aux surfaces qui sont attaquées comme souhaité. Enfin, les surfaces trop attaquées et donc lisses sont identifiées par les cases rouges.

Tableau II-8 : Résumé des observations réalisées sur les différentes combinaisons temps-température et mélange aqueux d'acides H_2SO_4:HCl:H_2O (2:2:1 et 3:1:1). En bleu : les paramètres pour lesquels les surfaces ne sont pas ou très peu attaquées ; en vert : les surfaces qui sont attaquées comme souhaité ; en rouge : les surfaces trop attaquées qui sont donc lisses

T (°C) / Temps (min)	40		60		80	
Composition du mélange d'acides (%vol)	**2 :2 :1**	**3 :1 :1**	**2 :2 :1**	**3 :1 :1**	**2 :2 :1**	**3 :1 :1**
1						
3						
5						
10						
15						
20						

Ensuite, le second critère est la présence de particules résiduelles de corindon. La Figure II-21 illustre une attaque acide réalisée avec le mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 3:1:1 (%v). Il est possible d'observer sur les micrographies réalisées en mode électrons secondaires, que plus le temps d'immersion dans le bain d'acide est long, plus la surface est attaquée (Figure II-21a, c et e). Il est également possible de voir sur les images prises en électrons rétrodiffusés que parallèlement, la quantité de corindon (en noir) recouvrant la surface de l'échantillon diminue (Figure II-21b, d et f). Cela vient du fait que l'acide attaque préférentiellement le titane libérant ainsi les particules d'alumine enchâssées qui, par un passage dans un bain à ultrasons, sont détachées du substrat et éliminées. L'analyse d'images précédemment décrite permet alors de quantifier le pourcentage de la surface totale de l'échantillon recouverte par le corindon pour les différentes conditions retenues précédemment (cases vertes). Ces résultats sont présentés dans le Tableau II-9. Il faut alors noter que les conditions menant à une faible proportion de particules d'alumine enchâssées (moins de 10 % de la surface recouverte) sont les suivantes :

- Mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 2 :2 :1 (%v) :
  - 80 °C ; 3 et 5 minutes
- Mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 3 :1 :1 (%v) :
  - 40 °C ; 20 minutes
  - 60 °C ; 10 et 15 minutes
  - 80 °C ; 3 minutes.

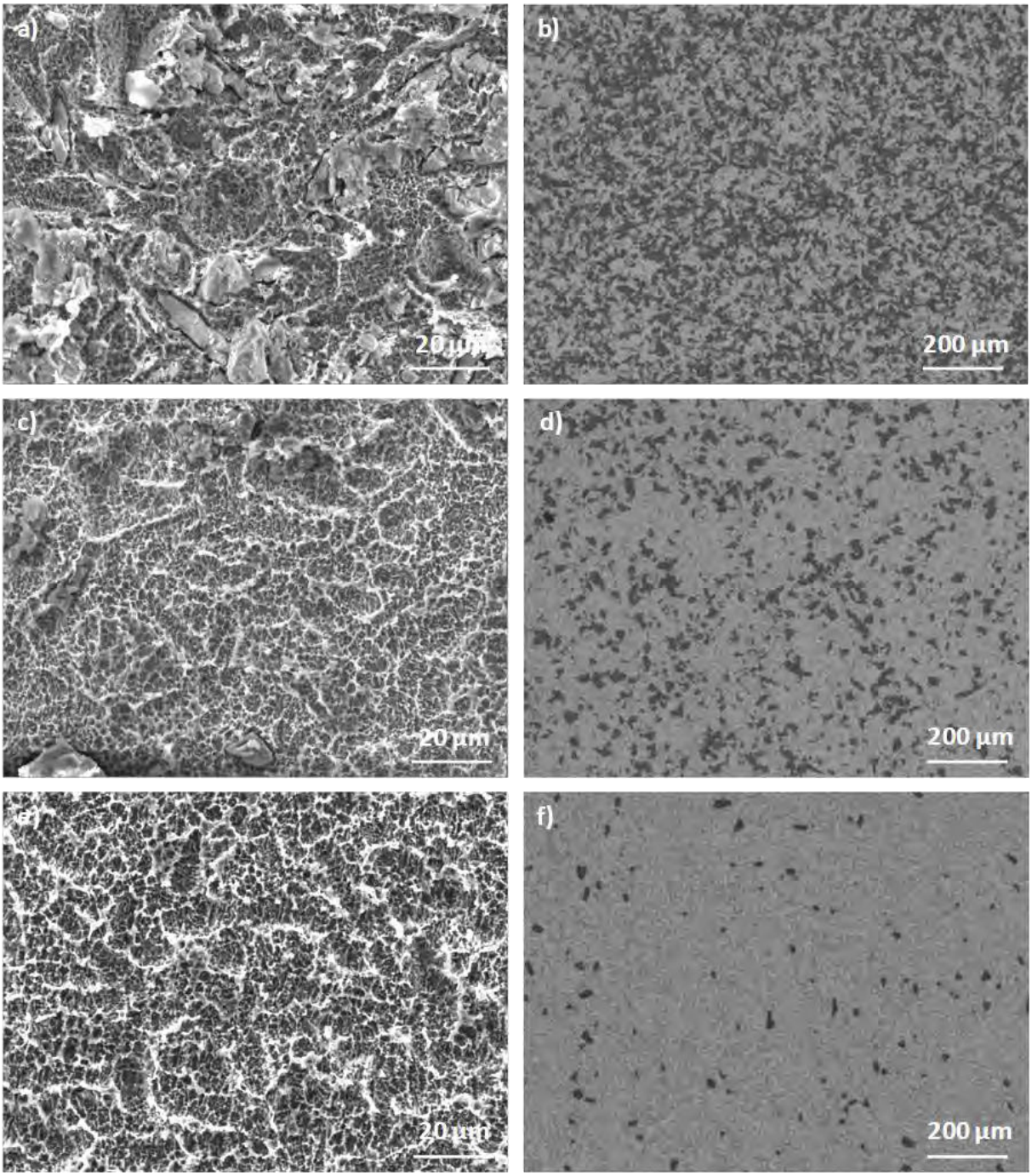


Figure II-21 : Micrographies MEB (a, c et e observation en mode électrons secondaires et b, d et f observation en mode électrons rétrodiffusés) d'une attaque acide réalisée avec le mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 3:1:1 (%v) après : a) et b) 10 minutes; c) et d) 15 minutes; e) et f) 20 minutes

Tableau II-9 : Proportion de la surface recouverte par les particules résiduelles de corindon (en %) après les différentes conditions d'attaque acide

T (°C) / Temps (min)	40		60		80	
Composition du mélange d'acides (%vol)	**2 :2 :1**	**3 :1 :1**	**2 :2 :1**	**3 :1 :1**	**2 :2 :1**	**3 :1 :1**
1	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	7 ± 3	5 ± 1
5	-	-	37 ± 4	25 ± 7	6 ± 4	-
10	-	45 ± 7	23 ± 4	8 ± 1	-	-
15	-	16 ± 5	-	2 ± 1	-	-
20	61 ± 3	3 ± 2	-	-	-	-

Pour conclure cette étude, plusieurs conditions semblent prometteuses mais le choix s'est porté sur deux d'entre elles afin de poursuivre les caractérisations des surfaces obtenues. Nous avons fait le choix de proposer une attaque acide réalisée à haute température mais avec un temps d'immersion court et *a contrario* une attaque acide menée à basse température mais avec un temps d'attaque plus long. Nous avons aussi décidé de conserver les 2 mélanges acides étudiés et nous avons donc choisi les deux protocoles suivants :

- Mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 2 :2 :1 (%v), 5 minutes, 80 °C
- Mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 3 :1 :1 (%v), 20 minutes, 40 °C

Enfin signalons que les échantillons ayant subi l'attaque mettant en œuvre le mélange d'acides en proportion 3 :1 :1 (%v) sont plus clairs que ceux obtenus avec le mélange en proportion 2 :2 :1 (%v).

II-5. Caractérisation des surfaces sablées et mordancées d'intérêt

Les deux protocoles d'attaque acide choisis précédemment ont été étudiés plus en détail afin d'établir un choix final. Le mélange H_2SO_4:HCl:H_2O en proportion 2 :2 :1 (%v) réalisé à 80 °C durant 5 minutes sera nommé SLA 221 (Figure II-22 a et c) alors que le second, en proportion 3 :1 :1 (%v) à 40 °C pendant 20 minutes, sera désigné comme SLA 311 (Figure II-22 b et d).

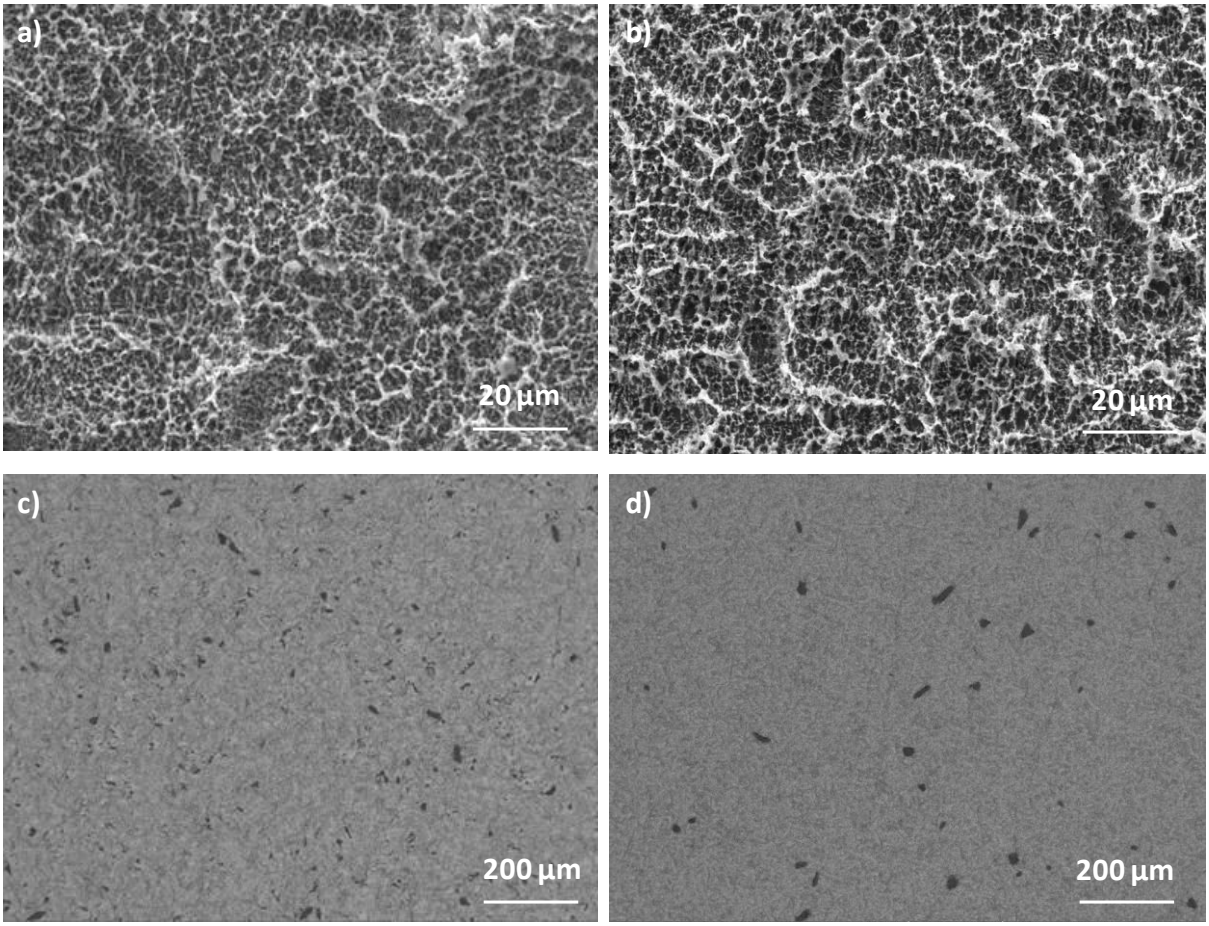


Figure II-22 : Micrographies MEB de la surface SLA 221 observée : a) en mode électrons secondaires et c) en mode électrons rétrodiffusés ; de la surface 311 observée : b) en mode électrons secondaires et d) en mode électrons rétrodiffusés

Afin de mettre en évidence l'influence de ces nouvelles attaques acides sur le substrat, des coupes transversales polies ont été observées au MEB mais aucun changement comme la présence de fissure supposée lors de fragilisation par hydrogène n'a été observé (résultats non présentés ici). De plus, la dureté a été mesurée sur ces mêmes coupes transversales polies sur deux zones distinctes de l'échantillon à savoir en son centre et à proximité du bord (environ 80 µm). Des valeurs similaires de dureté ont été mesurées dans ces zones quel que soit l'état de surface (SLA, SLA 221 et SLA 311). De plus, la valeur de dureté mesurée, comprise entre 270 et 280 HV, correspond à celle donnée dans la littérature pour du titane T60 grade 4 qui est de 275 à 285 HV (données CES EduPack 2017). Le fait que la dureté n'évolue pas permet de donner une indication sur l'absence de modification du matériau en surface ou en profondeur lors des attaques et nous laisse présumer que ces dernières n'ont pas détérioré les propriétés mécaniques du substrat par fragilisation par hydrogène par exemple.

Tableau II-10 : Résultats des mesures de dureté Vickers sur des coupes transversales polies des substrats après chaque type de traitement de surface au centre et proche de la surface de l'échantillon

HV 0,1	Traitements de surface		
	SLA	SLA 221	SLA 311
Centre échantillon	277 ± 6	278 ± 1	275 ± 2
Proche surface (≅ 80 µm)	274 ± 5	280 ± 4	270 ± 7

La rugosité ainsi que la mouillabilité de ces échantillons ont ensuite été mesurées (Tableau II-11). En comparaison avec la surface de référence SLA, la valeur de Sa pour l'échantillon SLA 311 est inférieure mais reste la même pour SLA 221. Ceci se traduit aussi par une diminution de Sq et Sz pour l'échantillon résultant de l'attaque 311 par rapport aux deux autres. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'attaque acide 3 :1 :1 menée à 40°C pendant 20 minutes attaque davantage le titane que les deux autres et réduit un peu plus la rugosité créée par le sablage. Néanmoins la valeur de rugosité arithmétique obtenue (Sa) reste en adéquation avec la gamme du cahier des charges (1-2 µm). Pour les trois différentes attaques, les valeurs de Ssk et Sku restent négative et supérieure à 3 respectivement. Aucun changement au niveau de l'asymétrie et de l'aplatissement de la surface n'est alors à noter.

La mouillabilité, quant-à-elle, reste la même pour la référence SLA et la surface SLA 221 compte tenu de la dispersion des mesures. Cependant, il peut être remarqué que pour la surface SLA 311, dès qu'une goutte est déposée sur celle-ci, elle s'étale complètement rendant impossible la mesure de l'angle de contact et traduisant une surface très hydrophile.

Tableau II-11 : Paramètres de rugosité et angles de goutte mesurés après sablage et attaque acide de référence (SLA), attaque acide H_2SO_4:HCl:H_2O 2 :2 :1 (%v) à 80°C et 5 minutes (SLA 221) et attaque acide H_2SO_4:HCl:H_2O 3 :1 :1 (%v) à 40°C et 20 minutes (SLA 311)

		Traitements de surface		
		SLA	SLA 221	SLA 311
Caractéristiques de surface	Sa (µm)	1,7 ± 0,1	1,67 ± 0,09	1,46 ± 0,09
	Sq (µm)	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,9 ± 0,1
	Sz (µm)	22 ± 2	25 ± 6	21 ± 5
	Ssk	-0,20 ± 0,08	-0,1 ± 0,1	-0,1 ± 0,1
	Sku	3,4 ± 0,1	3,5 ± 0,6	3,4 ± 0,2
	Angle de goutte (°)	39 ± 15	46 ± 19	0*

* La gouttelette d'eau s'étale complètement sur la surface entraînant un faible angle de contact, impossible à mesurer.

Ces dernières caractérisations nous permettent de finaliser le choix concernant le traitement de surface à adopter. En effet, les deux protocoles de mordançage développés ne semblent pas modifier les propriétés mécaniques du substrat. Ils conduisent à une gamme de rugosité conforme au cahier des charges. De plus, la rugosité étant comprise entre 1 et 2 µm et comprenant des micropores, elle est considérée par la littérature comme optimale pour l'ostéointégration [164]. Ces attaques permettent également de diminuer la surface du substrat recouverte par les particules de corindon enchâssées d'environ 50 % après sablage à approximativement 5 %. Ces protocoles de mordançage permettent donc d'obtenir une surface de titane rugueuse et contenant un taux de particules d'alumine enchâssées limité.

Néanmoins, les principaux inconvénients d'un procédé d'attaque acide à haute température, comme SLA 221, sont la consommation d'énergie, le changement de composition du bain dû à l'évaporation de l'eau et de l'acide composant la solution et la gestion des risques et de la sécurité des opérateurs dans l'optique d'un développement industriel.

La surface SLA 311, quant à elle, présente une mouillabilité élevée qui constitue également un avantage pour l'ostéointégration si les implants sont utilisés sans revêtement. De plus, cette mouillabilité élevée pourrait permettre un meilleur contact avec les solutions aqueuses qui seront utilisées pour l'élaboration du revêtement dans les prochains chapitres. Enfin, la rugosité et les micropuits obtenus pourraient améliorer l'adhérence mécanique du revêtement déposé à la surface de ces échantillons. Le procédé SLA 311 semble alors plus adapté à notre étude et a donc été choisi pour la suite du travail.

La composition chimique de la surface SLA 311 a alors été investiguée. Elle a premièrement fait l'objet d'une étude par diffraction des rayons X en mode rasant avec un angle d'incidence de 1 °, un pas de 0,02 ° et un temps de comptage de 3 secondes. Il est possible d'observer sur le diffractogramme RX présenté sur la Figure II-23 une diminution voire une disparition des pics caractéristiques du corindon en comparaison avec un échantillon sablé (SL) ; en accord avec les résultats présentés précédemment par imagerie MEB. De plus, de nouveaux pics sont apparus à environ 41 ° et 59,4 ° par rapport aux surfaces de référence sablée (SL) ou sablée et mordancée (SLA). Ceux-ci ont été identifiés comme du TiH_2 grâce à la fiche JCPD n° 00-009-0371. La présence de TiH_2 est en effet décrite dans la littérature lors de la réaction entre le titane et l'acide sulfurique [68], [72], [101], [165]. La présence de ce composé indique que l'hydrogène est présent dans le substrat et plus particulièrement à sa surface pouvant mener à la fragilisation par hydrogène du substrat en titane. Cela indique que des caractérisations plus poussées des propriétés mécaniques du substrat seraient nécessaires afin de vérifier que la tenue mécanique de ce dernier n'est pas déteriorée par les attaques acides.

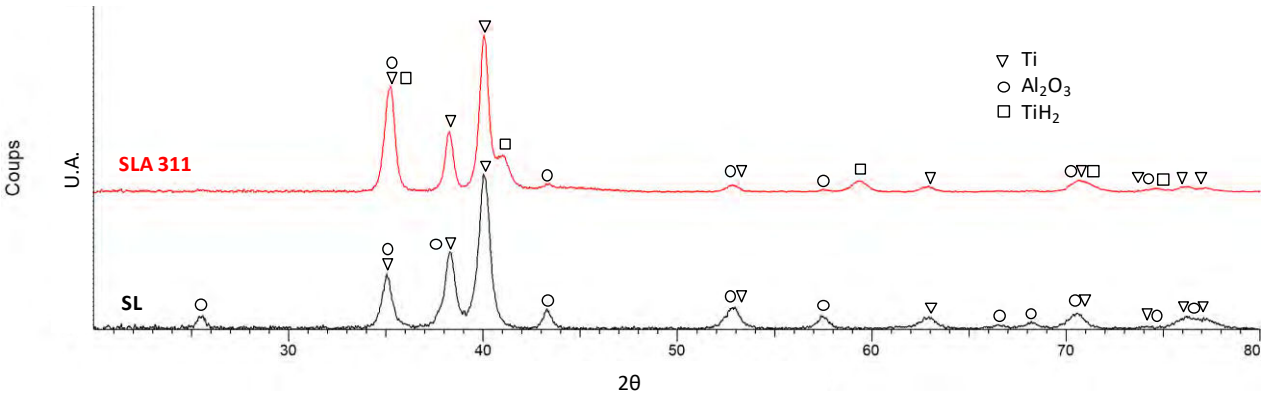


Figure II-23 : Diffractogramme RX d'une cale sablée (SL) en noir et d'une cale sablée et attaquée avec le mélange acide H_2SO_4:HCl:H_2O 3 :1 :1 (%v) à 40°C et 20 minutes (SLA 311) en rouge

Une analyse XPS a ensuite été réalisée suivant le même protocole que celui décrit précédemment dans la partie II-2. Brièvement, des scans rapides sont réalisés sur l'échantillon 311 dans le but d'identifier les éléments présents en surface et de prioriser les analyses. Par la suite, quatre points ont été analysés avec un spot de 400 µm de diamètre. Ensuite un de ces points a été choisi pour l'analyse de la chimie en profondeur. Pour cela un décapage utilisant un spot de 200 µm de diamètre, des ions argon et une tension de 500 eV ont été mis en œuvre. Deux abrasions de 30 secondes suivies de trois abrasions de 60 secondes et de trois de 120 secondes ont été effectuées sur l'échantillon et correspondent à des profondeurs d'analyse hypothétiques de : 0, 6, 12, 24, 36, 48, 72, 96 et 120 nm. La Figure II-24 illustre encore une fois la présence de TiO_2 grâce aux bandes à 465,08 (Ti $2p_{1/2}$) et 459,00 eV (Ti $2p_{3/2}$). Cependant, il est possible d'observer qu'après la première abrasion, ces bandes sont toujours présentes même si la bande Ti $2p_{3/2}$ du Ti^{4+} initialement présente à 459,08 eV commence à se décaler vers les hautes énergies afin de se rapprocher de la bande Ti $2p_{1/2}$ du titane métallique à 460,08 eV. Aussi plus le temps d'abrasion augmente, plus l'intensité de la bande du Ti $2p_{3/2}$ du titane métallique à 454,28 eV augmente alors que celle de la bande du Ti $2p_{3/2}$ du Ti^{4+} à 465,08 eV diminue. Cela montre alors que la couche d'oxyde finalement obtenue après ce mordançage est bien du TiO_2. L'épaisseur de celle-ci est cependant plus importante que celle obtenue par les traitements de surface réalisés par l'entreprise et son épaisseur est approximativement comprise entre 24 et 36 nm. L'attaque acide développée ne modifie donc pas la composition chimique de la couche d'oxyde mais son épaisseur. Cela peut être favorable quant à la résistance à la corrosion de l'implant dans les fluides biologiques.

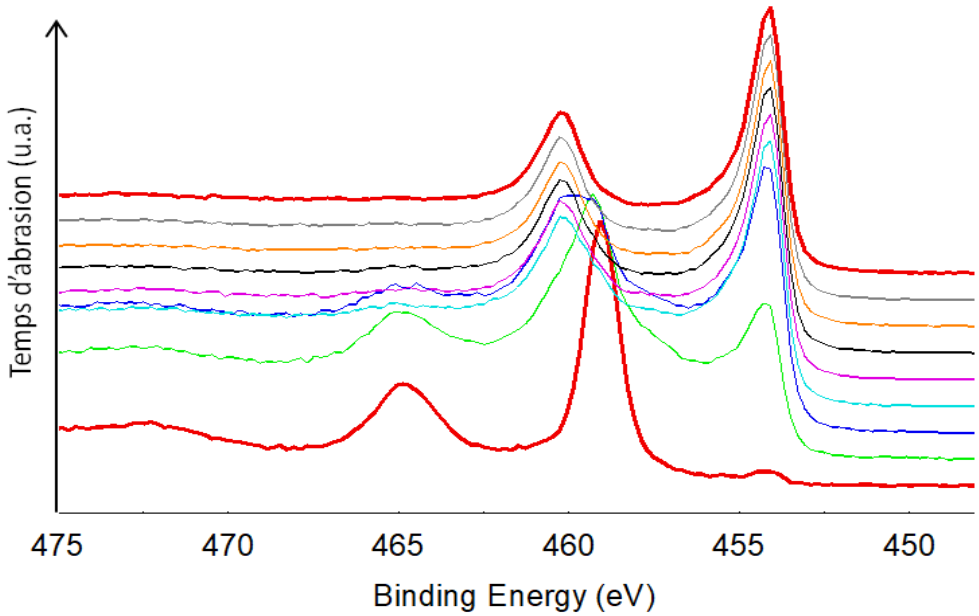


Figure II-24 : Spectre XPS Ti 2p d'une surface sablée et attaquée avec le mélange acide H_2SO_4:HCl:H_2O 3 :1 :1 (%v) à 40°C et 20 minutes (SLA 311)

Finalement la surface SLA 311 comporte une topographie présentant la rugosité due au sablage ainsi que des micropuits additionnels qui pourraient par la suite favoriser l'ancrage mécanique du revêtement. De plus, la rugosité moyenne arithmétique de cette surface est de 1,46 ± 0,09 µm et donc au milieu de la gamme de rugosité souhaitée (1-2 µm). Cette surface est également dépourvue d'alumine car moins de 5 % de la surface totale du substrat est recouverte par des particules de sablage. La mise en évidence de TiH_2 pourrait néanmoins engendrer un problème lié à la fragilisation par l'hydrogène du substrat en titane. Cependant, aucune fissure n'a été observée et la dureté du matériau n'a pas été modifiée par l'attaque. Les propriétés mécaniques du substrat ne devraient donc pas être déteriorées. Des tests supplémentaires pourraient être menés afin de vérifier la tenue en compression et en torsion des échantillons qui sont les principales sollicitations mécaniques agissant sur les implants dentaires ainsi que leur résistance à la fatigue. La couche épaisse de TiO_2 créée par l'attaque pourrait être bénéfique pour la tenue en corrosion de l'implant dans le milieu biologique. Finalement, la mouillabilité importante de la surface peut s'expliquer par une rugosité quelque peu différente de celle de la surface SLA de référence ou SLA 221 mais aussi par un changement de la composition chimique de la surface due à la présence de TiH_2 et d'une couche plus épaisse de TiO_2. Ceci représente un avantage clé. D'une part, une meilleure ostéointégration est observée pour des surfaces mouillables. D'autre part, cette surface présente un intérêt concret dans cette étude mettant en œuvre des procédés de revêtement par voie aqueuse.

II-6. Vers un procédé industriel

Le but de l'étude décrite ci-après est d'adapter le protocole d'attaque acide développé précédemment qui était réalisé sur une dizaine d'échantillons pour son application à une centaine. La validation des échantillons attaqués est également abordée.

Dans un premier temps, le montage du bain marie précédemment décrit a dû être adapté afin de traiter un nombre d'échantillons plus élevé. Le montage est composé de 2 cristallisoirs formant le bain marie et d'une plaque chauffante permettant de réguler la température de l'eau du bain grâce à une sonde. Les échantillons sont également disposés sur un support inerte vis-à-vis du bain d'acide grâce à leur trou borgne. Sachant que le temps d'attaque est assez long (20 minutes), une agitation de la solution semble préférable afin de l'homogénéiser en composition et en température. Celle-ci est créée grâce à la plaque chauffante et à un barreau aimanté. Pour ce faire, un anneau en téflon a été usiné permettant de placer en son centre le barreau, libre de tourner, et au-dessus le support avec les échantillons (Figure II-25).

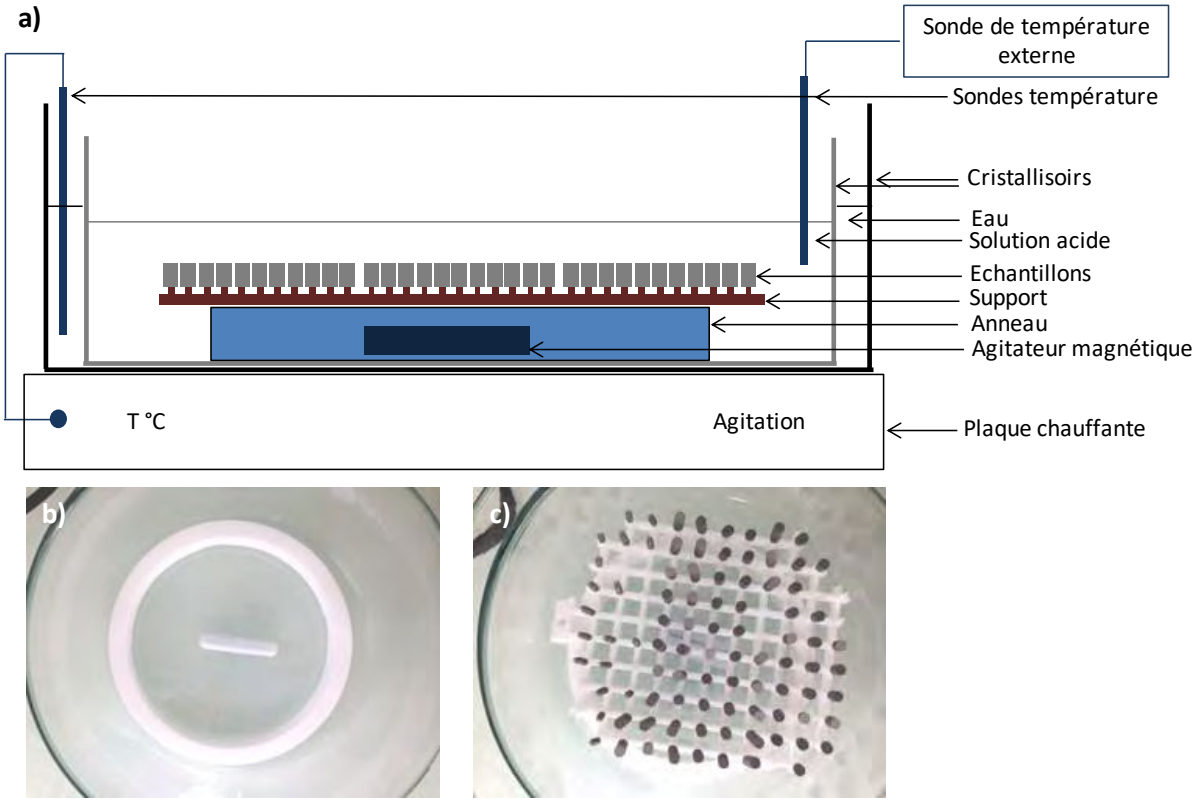


Figure II-25 : Schéma (a) et photographies en vues de dessus (b) du système d'agitation et (c) du support d'échantillons du montage permettant l'attaque d'une centaine d'échantillons à partir d'un mélange d'acides à température contrôlée par un bain marie

Dans un second temps le mélange acide, précédemment réalisé au laboratoire, a été produit par un sous-traitant afin d'en obtenir des quantités plus importantes. Cette préparation est en effet longue et demande un équipement adapté à cause de la réaction très exothermique ainsi que le dégagement gazeux acide se produisant. Le certificat de fabrication se trouve en annexe 248B. Il faut noter que les quantités d'acide ajoutées par le fabricant ne correspondent pas exactement à celle de notre mélange. Le mélange acide préparé est en effet moins concentré. Il faut rappeler qu'une dizaine d'échantillons ont été attaqués dans 100 mL de mélange acide. Dans le but de conserver le ratio surface attaquée et volume d'acide utilisé à l'échelle laboratoire, le plateau de 100 échantillons est immergé dans 1 L du bain acide. De plus, cette quantité permet de recouvrir les échantillons même lorsque le plateau est positionné sur l'anneau en téflon (Figure II-25b).

Les échantillons obtenus dans ce système semi-pilote ont été caractérisés après attaque : la topographie observée au MEB est identique à celle observée précédemment lors du traitement d'un lot de 10 échantillons avec le mélange réalisé au CIRIMAT. Aussi, une faible quantité d'alumine enchâssée a été observée (< 10 %).

De plus, la rugosité ainsi que la mouillabilité des échantillons ont été mesurées (Tableau II-12). Il est alors possible de remarquer que la rugosité moyenne arithmétique (Sa) et la rugosité moyenne quadratique (Sq) obtenues avec l'acide du fournisseur et lors du traitement de 100 échantillons sont légèrement plus élevées que celles des échantillons traités par lot de 10 avec le mélange acide réalisé au laboratoire. Ceci peut provenir du fait que le mélange acide préparé par le sous traitant est moins concentré et attaque moins le titane donc n'écrête pas autant la rugosité créée par le sablage. La valeur de Sz obtenue avec l'acide du fournisseur est inférieure à celle mesurée pour l'acide préparé au CIRIMAT mais la différence n'est pas significative. Ssk et Sku, restent quant à eux, supérieur à 3 et négatif respectivement. La rugosité finalement obtenue reste comprise dans la gamme souhaitée de 1 – 2 µm.

Pour finir, la mouillabilité a été mesurée et, comme précédemment, la surface est trop hydrophile pour que l'angle de contact entre le substrat et la goutte d'eau soit observé et mesuré. L'hydrophilicité de surface est alors conservée.

Le montage, quant à lui, semble être efficace car aucune disparité au niveau de l'attaque des échantillons n'a été observée au MEB, ni pour les mesures de rugosité ni pour celles de mouillabilité.

Il est alors possible de conclure que la surface obtenue avec ce nouveau montage et ce nouveau mélange acide du fournisseur correspond à celle décrite précédemment même si sa

rugosité est légèrement supérieure. Celui-ci pourra alors être utilisé afin de produire un nombre d'échantillons plus élevé lors du transfert à l'échelle industrielle.

Tableau II-12 : Paramètres de rugosité et angles de goutte mesurés après sablage et attaque acide de référence (SLA) et après sablage et attaque acide H_2SO_4:HCl:H_2O 3 : 1: 1 (%v) à 40°C pendant 20 minutes avec un mélange acide produit au laboratoire (lot de 10) et celui préparé par le sous traitant (lot de 100)

		SLA	Acide CIRIMAT	Acide fournisseur
Caractéristiques de surface	Sa (µm)	1,7 ± 0,1	1,46 ± 0,05	1,75 ± 0,06
	Sq (µm)	2,1 ± 0,1	1,85 ± 0,06	2,21 ± 0,05
	Sz (µm)	22 ± 2	21 ± 3	19 ± 1
	Ssk	3,4 ± 0,1	3,4 ± 0,1	3,3 ± 0,3
	Sku	-0,20 ± 0,08	- 0,13 ± 0,07	- 0,10 ± 0,07
	Angle de goutte (°)	39 ± 15	0*	0*

* La gouttelette d'eau s'étale complètement sur la surface entraînant un faible angle de contact impossible à mesurer.

Pour la suite de ce travail et afin d'accueillir les revêtements de CaP, les substrats sont dans un premier temps usinés et sablés par le partenaire industriel. Ils sont par la suite lavés dans des bains d'eau et d'éthanol puis séchés avant que des lots de 100 échantillons soient attaqués à l'aide du mélange acide 3 : 1 : 1 (% v), préparé par le sous-traitant, à 40 °C pendant 20 minutes. Cette attaque acide est ensuite neutralisée à l'aide d'un bain de bicarbonate et les échantillons sont à nouveau rincés et séchés.

Dans le chapitre suivant nous étudierons l'élaboration d'un revêtement de CaP par le procédé d'immersions successives sur les substrats préparés comme décrit précédemment.

Chapitre III

Elaboration d'un revêtement de phosphate de calcium par immersions successives

Suite à la préparation de surface des échantillons de titane permettant d'obtenir une surface dépourvue de particules d'alumine ainsi qu'une rugosité comprise entre 1 et 2 µm et une mouillabilité de surface importante, un revêtement de phosphate de calcium a été mis en place via le procédé d'immersions successives décrit dans la partie I-5-2-a du Chapitre I. Pour cela, les verrous technologiques de ce procédé ont été identifiés et un protocole permettant d'obtenir un revêtement correspondant au cahier des charges de l'étude a été mis en place et sera présenté ici. Par la suite, la chimie, la structure et la topographie du revêtement ainsi que l'adhérence de ce dernier au substrat ont été investiguées. Enfin un mécanisme concernant la formation du revêtement de CaP sera proposé.

III-1. Mise en place du protocole d'élaboration du revêtement

Ce procédé de revêtement s'inspire du procédé d'immersions successives afin de pallier les limites du procédé d'immersion classique décrites dans le Chapitre I. En bref, celui-ci consiste à immerger l'implant dans un bain de calcium, à le rincer puis à le tremper dans un bain de phosphate afin de faire précipiter un phosphate de calcium, à le rincer à nouveau puis à le laisser sécher (Figure III-1).

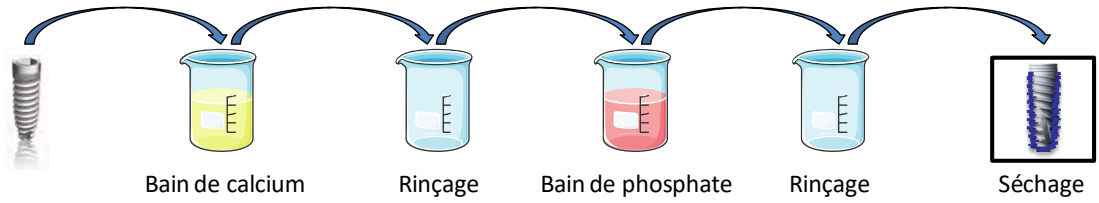


Figure III-1 : Schéma descriptif du principe du procédé d'élaboration d'un revêtement de phosphate de calcium par immersions successives

Dans la littérature, les procédés utilisant les immersions successives sur implants en titane mettent en œuvre un prétraitement à l'aide d'une solution alcaline de NaOH (à 5 M [101] ou 10 M [103]) pendant 24 heures à 60 °C. Ce prétraitement permettrait, d'après les auteurs, d'améliorer la germination des phosphates de calcium en retenant les ions calcium à la surface du matériau même lors du rinçage intermédiaire afin qu'ils puissent réagir avec les ions phosphate présents dans le deuxième bain (cf. Chapitre I pour plus de détail).

Le temps de traitement alcalin étant long, nous avons essayé de développer dans notre étude un procédé d'immersions successives plus rapide n'incluant pas ce prétraitement dans la perspective de développer un procédé industrialisable.

Des premiers essais d'immersions successives ont été menés sans ce prétraitement sur les substrats en titane de type SLA 311 développé précédemment. Cependant, aucun revêtement n'a été observé. La conclusion était la même en inversant l'ordre des bains. Le procédé d'immersions successives ne semble pas fonctionner sur des implants en titane sans le prétraitement. L'hypothèse la plus probable est que sans ce dernier, le rinçage intermédiaire entre les deux bains élimine tous les ions calcium du premier bain. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'il n'y a aucune accroche chimique entre la surface du titane et les ions calcium contrairement à certaines expériences menées avec d'autres matériaux. En effet, comme décrit dans le Chapitre I, des interactions entre les ions calcium et les groupements hydroxyle de la gomme de xanthane ou les groupements silanol d'un gel de silice ont été décrits permettant d'expliquer cette accroche chimique des cations calcium au substrat [95], [97].

Dans notre étude, il a été décidé de remplacer les étapes de pré-traitement et de rinçage entre les deux bains par une étape de centrifugation. Celle-ci permettrait de créer un film liquide fin contenant des ions calcium ou phosphate (en fonction de la nature du premier bain) qui pourront ensuite réagir avec les ions du deuxième bain afin d'obtenir un revêtement de CaP. Cela fait suite à une étude précédente menée au sein du laboratoire par Jean-Philippe LAFFON (post-doctorant CIRIMAT – INPT, 2004 - 2008) et par Emmanuelle PICOT (stage master Recherche, Université Paul Sabatier, 2014) dont les résultats n'ont pas été publiés. Le procédé d'immersions successives modifié pour notre étude est schématisé à la Figure III-2. Ici, une centrifugeuse *Sigma 3-15* (Bioblock Scientific) a été utilisée.

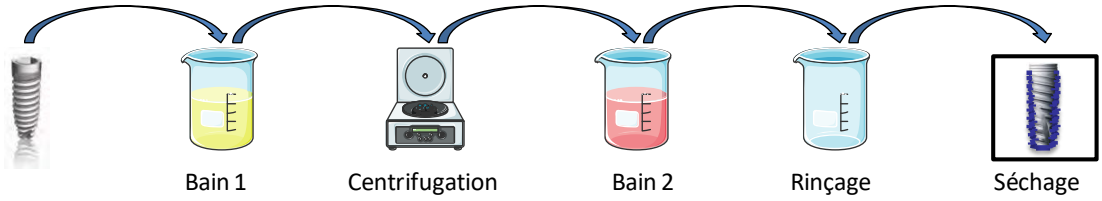


Figure III-2 : Schéma des différentes étapes du procédé d'immersions successives modifié pour notre étude

Une fois les étapes du procédé mises en place, une identification puis une optimisation des paramètres influençant les caractéristiques du revêtement sont nécessaires. Ceux-ci sont énumérés étape par étape sur la Figure III-3.

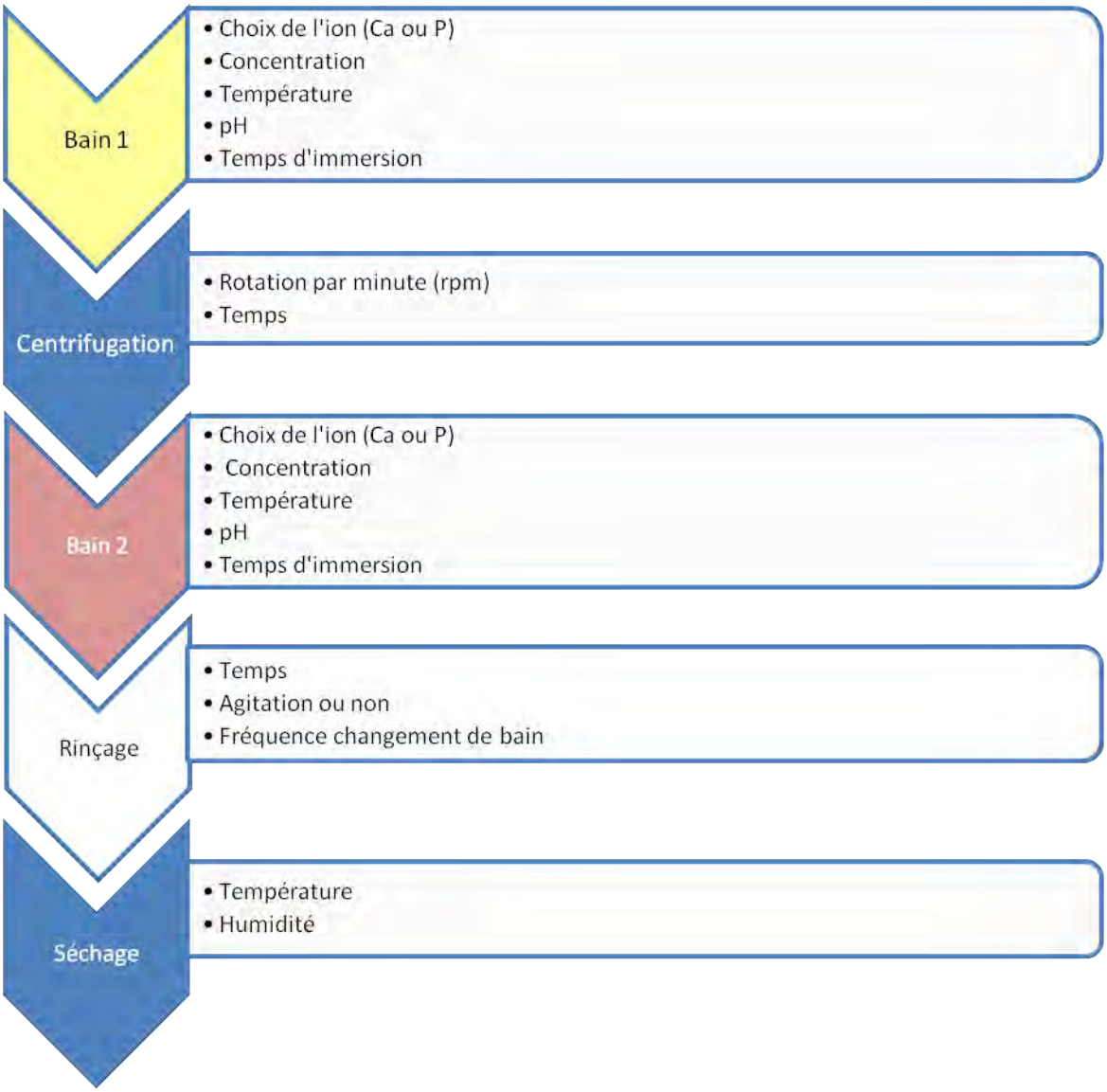


Figure III-3 : Représentation schématique des différentes étapes du procédé d'immersions successives ainsi que des paramètres de synthèse associés à chacune d'elles

Les précédents travaux ont conduit à établir un protocole permettant d'obtenir un revêtement de CaP et rapportent l'influence de certains paramètres sur le revêtement formé.

Premièrement, les sels nécessaires à la préparation des solutions ont été choisis en prenant en compte leur compatibilité biologique ainsi que le critère de l'industrialisation en choisissant donc les sels les moins onéreux. Le choix s'est alors porté sur le chlorure de calcium ($CaCl_2,2H_2O$) comme source de calcium et sur le phosphate de sodium ($Na_3PO_4,12H_2O$) comme source de phosphate. Une étape d'ozonation durant 10 min grâce à une lampe UV (λ = 185 nm) a également été implémentée afin d'obtenir une surface « propre » du substrat avant l'élaboration du revêtement.

Les différents paramètres fixés par J.P. LAFFON et E. PICOT sont résumés par la Figure III-4 et les raisons de leurs choix sont explicitées plus en détail ci-après :

- Bain 1 :
    - Bain de phosphate car aucun revêtement n'avait été formé en commençant par le calcium
    - [P] = 0,5 M afin de travailler avec des concentrations importantes mais en dessous de la limite de solubilité du phosphate de sodium
    - Le bain est placé dans une étuve à 37 °C afin d'éviter les fluctuations de la viscosité de la solution de phosphate avec la température ambiante
    - Aucun ajustement du pH de la solution n'a été effectué (pH ≅ 12,7)
    - Un temps d'immersion de 30 minutes a été choisi afin de laisser un temps de contact implant/solution suffisant, pour favoriser des interactions chimiques entre eux. De plus, une étape de passage au bain à ultrasons a été ajoutée avant la mise à l'étuve afin d'éliminer les bulles d'air qui pourrait être présentes entre l'implant et la solution de phosphate, ce qui empêcherait un bon contact entre ces derniers.
- Centrifugation : les paramètres de 1500 rpm et 10 min ont été sélectionnés dans le but de former *in fine* un revêtement fin et recouvrant l'échantillon.
- Bain 2 :
    - Bain de calcium
    - [Ca] = 0,5 M afin de travailler avec des concentrations importantes mais en dessous de la limite de solubilité du chlorure de calcium
    - pH ajusté à 10 grâce à une solution de KOH à 0,1 M afin de favoriser la présence d'ions PO_4^{3-} et donc la formation d'apatite (et non de DCPD).
    - Ce bain est placé de nouveau dans une étuve à 80 °C. D'une part, cette température favorise la formation d'apatite. D'autre part, cette température permet d'obtenir une phase de CaP mieux cristallisée et permettrait une meilleure adhérence du revêtement au substrat d'après J.P. LAFFON.
    - Un temps d'immersion de 2 h a été choisi afin de laisser la précipitation du CaP se faire et pourrait permettre l'homogénéisation chimique au sein du revêtement (maturation).
- Rinçage : 2 fois 30 secondes sous agitation dans 400 mL puis 1 fois 10 minutes sans agitation dans 400 mL. Tout cela dans de l'eau déminéralisée. Les temps de lavage ont été optimisés afin de dissoudre le NaCl ayant cristallisé à la surface des échantillons.
- Séchage : à température ambiante pendant 24 h afin de maintenir une température de séchage douce.

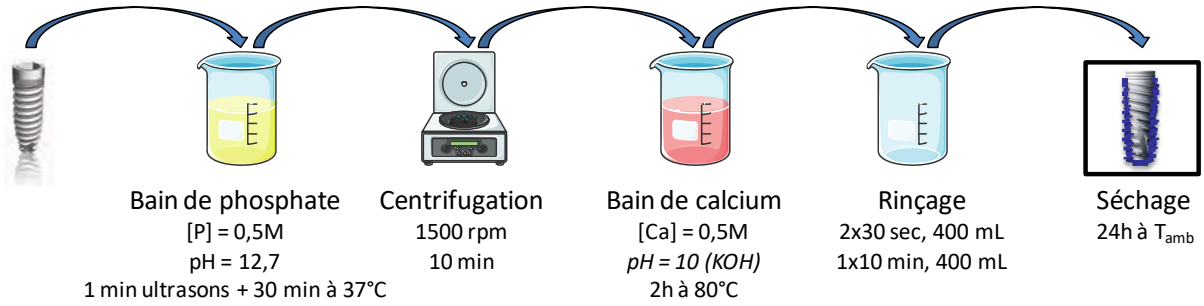


Figure III-4 : Etapes et conditions du procédé d'immersions successives établies par J.P. LAFFON et E. PICOT

Cependant, durant ce travail de thèse, une étude de répétabilité a montré que ces paramètres n'étaient pas optimisés dans le cas de nos implants. En effet, parfois un revêtement ne couvrant pas entièrement la surface était observé et parfois aucun revêtement n'était présent. Cela peut s'expliquer par le fait que la surface du substrat pour notre étude (SLA 311) est très différente de celle utilisée dans les études précédentes. Pour nous, le point le plus critique du procédé est l'étape de centrifugation car celle-ci devrait permettre de déposer un film liquide fin et continu contenant les ions phosphate qui peuvent ensuite réagir avec les ions calcium. La formation de ce film fin dépend des paramètres de centrifugation mais aussi de la surface du substrat car celle-ci, en fonction de sa rugosité et/ou de sa composition chimique, va retenir plus ou moins le liquide et dtéerminer son état continu ou dispersé. L'étape de centrifugation est donc déterminante en termes de potentiel de formation du revêtement. Les paramètres de centrifugation, représentant le principal verrou technologique à lever, doivent être optimisés à nouveau avec la nouvelle surface mise au point (SLA 311, cf. Chapitre II).

Notre étude paramétrique principale s'est alors portée sur les paramètres de centrifugation. A noter qu'une étape de lavage des échantillons a été ajoutée au tout début du protocole d'élaboration du revêtement afin de partir d'une surface « propre » et répétable. Le protocole de lavage classiquement mis en œuvre se compose de 2 fois 5 minutes aux ultrasons dans de l'eau déminéralisée suivi de 5 minutes aux ultrasons dans de l'éthanol avant un séchage durant 20 minutes à 60 °C. Les échantillons subissent ensuite l'étape d'exposition aux UV (λ = 185 nm) durant 10 minutes mise en place au CIRIMAT. Il a en effet été démontré dans le Chapitre II qu'une surface très hydrophile est obtenue après ce traitement. Une bonne mouillabilité semble importante lors de l'utilisation du procédé par immersions successives qui met en œuvre des solutions aqueuses cationique et anionique.

Les autres paramètres du procédé ont été fixés comme présenté sur la Figure III-4. Seuls les paramètres de centrifugation à savoir le temps ainsi que la vitesse de rotation (rotations par minute - rpm) ont été modifiés. Les différents couples de paramètres étudiés sont résumés dans le Tableau

III-1. A noter qu'une vitesse de rotation inférieure à 500 rpm n'a pas été mise en œuvre à cause de l'instabilité de la machine en dessous de cette valeur.

Après chaque expérience, les échantillons ont été observés au MEB. Le premier critère concerne la présence d'un revêtement à la surface de l'échantillon et donc des paramètres de centrifugation associés. Le deuxième consiste à déterminer les paramètres conduisant à un revêtement couvrant toute la surface de l'échantillon. Les paramètres pour lesquels un revêtement couvrant, représenté par la Figure III-5a, a été observé sont représentés par des ronds vert dans le Tableau III-1. Les dièses oranges indiquent les paramètres pour lesquels un revêtement non couvrant a été observé. Ce revêtement peut par exemple être représenté par la Figure III-5b, pour laquelle en mode électrons rétrodiffusés, les zones recouvertes par un revêtement de CaP apparaissent grises alors que le titane est plus clair (délimitation d'une de ces zones en rouge). Les paramètres ne menant pas à la formation d'un revêtement sont représentés par des croix rouges dans le Tableau III-1. Finalement, la répétabilité du procédé pour chaque couple de paramètres permettant d'obtenir un revêtement de CaP couvrant a été étudiée. Les résultats de cette étude de répétabilité sont indiqués sous forme de pourcentages dans le Tableau III-1.

Tableau III-1 : Etude paramétrique (vitesse de rotation, durée) de l'étape de centrifugation dans le procédé par immersions successives. Présence, homogénéité et répétabilité (indiquée en %) du revêtement sur le substrat en titane en fonction des paramètres de centrifugation (temps et vitesse de rotation) : ● = revêtement recouvrant entièrement la surface; # = revêtement ne recouvrant pas complètement la surface ; X = pas de revêtement ; case vide : paramètres non testés

Temps / RPM	0 min	5 min	7 min	10 min	20 min	30 min
0	● 100 %					
500		● 100%	● 80%	● 75%	#	
700		● 100%	● 80%		#	#
900		● 50%				#
1500		#	#	#	#	
2000		X			X	

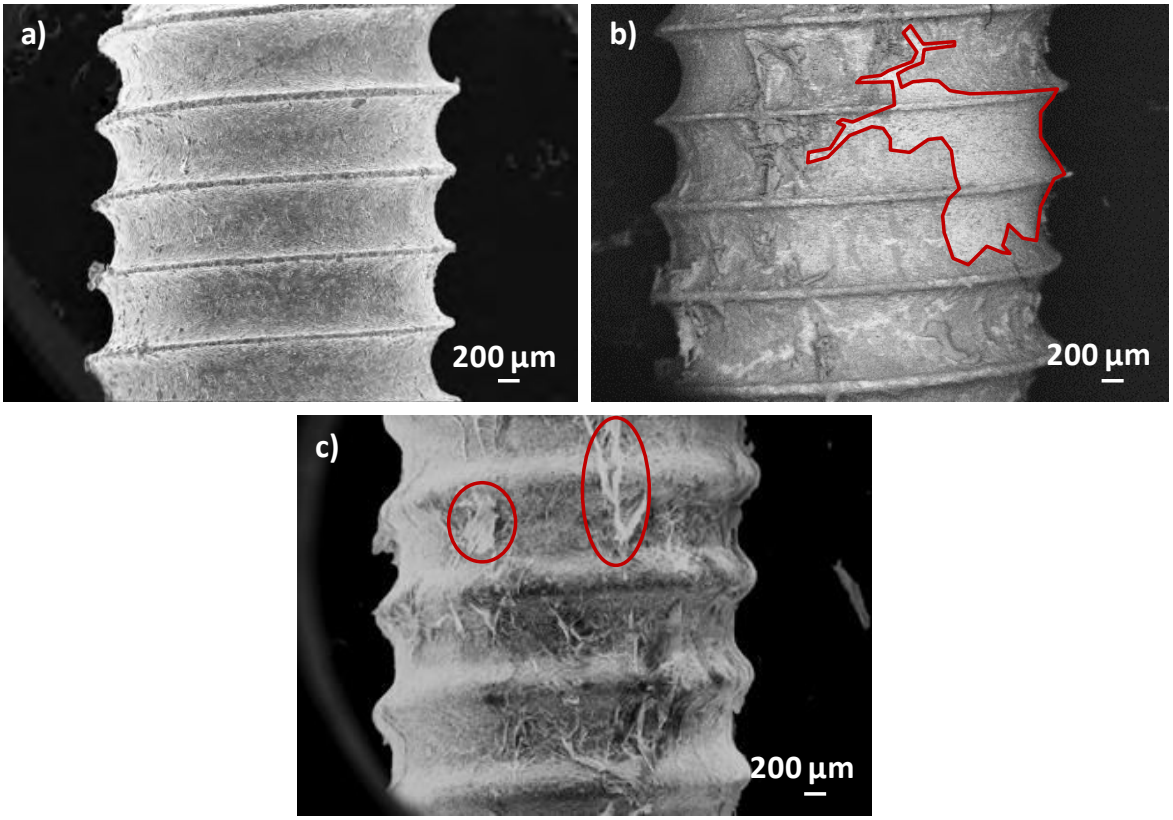


Figure III-5 : Micrographies MEB d' : a) un revêtement couvrant sans agglomérats (mode électrons secondaires), b) un revêtement non-couvrant (mode électrons rétrodiffusés), la surface non recouverte entourée en rouge et c) un revêtement couvrant avec agglomérats entourés en rouge (mode électrons secondaires)

Il est donc possible d'établir que, dans nos conditions expérimentales, les trois meilleurs couples de paramètres sont : 0 min – 0 rpm, 5 min – 500 rpm et 5 min – 700 rpm. Cependant, sans centrifugation (0 min – 0 rpm), le revêtement obtenu comporte énormément d'agglomérats (Figure III-5c) et est donc très inhomogène en termes d'épaisseur. Les paramètres de centrifugation les mieux adaptés pour produire un revêtement de CaP couvrant toute la surface de titane, homogène et ne présentant que très peu d'agglomérats sont finalement 500 rpm pendant 5 ou 7 minutes. De plus, l'élaboration du revêtement avec ces couples de paramètres semble reproductible. Les paramètres de centrifugation 500 rpm et 5 min ont donc été fixés pour la suite de notre étude. Le revêtement obtenu avec ces paramètres peut être observé à plus fort grossissement sur la Figure III-6. On peut remarquer que la rugosité du substrat est encore visible ce qui indiquerait que le revêtement est fin. De plus, la préservation de la rugosité initiale du substrat peut être un point important pour l'ostéointégration et l'ancrage mécanique de l'implant dans l'os, comme expliqué dans le Chapitre I. Néanmoins des craquelures, pointées sur la Figure III-6, de taille inférieure au micromètre sont visibles au sein du revêtement, formant un faïençage. Cela pourrait nuire à la stabilité et aux propriétés mécaniques du dépôt.

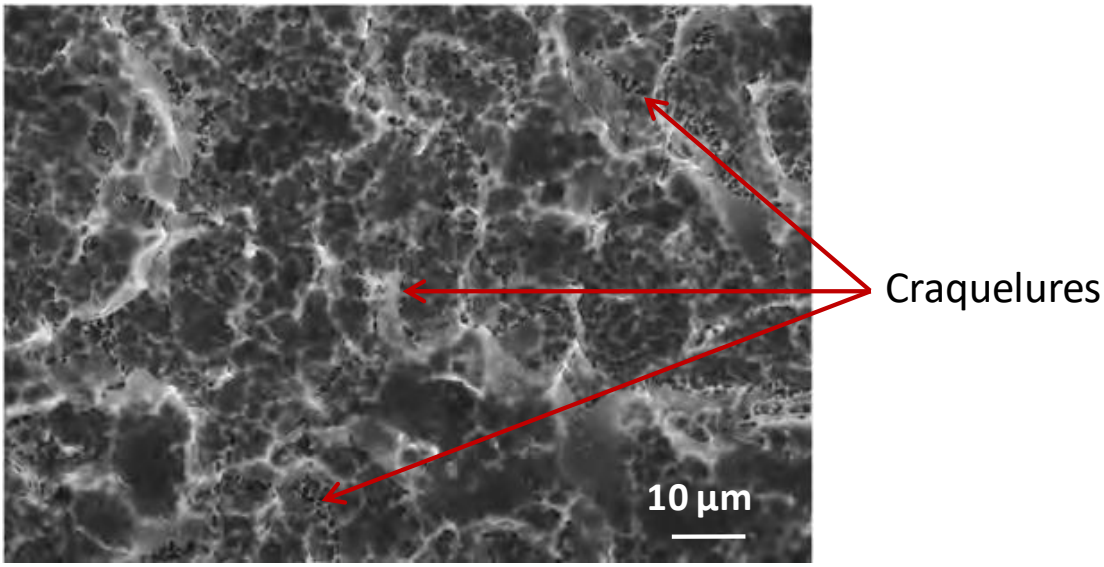


Figure III-6 : Micrographie MEB d'un revêtement de CaP obtenu par immersions successives avec le couple de paramètres de centrifugation 500 rpm et 5 min

Afin de confirmer notre observation générale concernant l'épaisseur du revêtement, celle-ci a été mesurée. Plusieurs techniques ont été envisagées. Une première méthode consiste à revêtir l'échantillon sur la moitié de la surface en protégeant l'autre moitié pour qu'elle ne soit pas en contact avec les solutions d'immersions. La marche ainsi créée par le revêtement formé sur la partie du substrat non protégée peut ensuite être mesurée à l'aide d'un profilomètre, d'un microscope interférométrique ou encore d'un microscope à force atomique (AFM). Cette méthode a été testée et abandonnée car la solution de phosphate arrivait à pénétrer sous le matériau de masquage du substrat lors de l'étape de centrifugation.

Finalement, l'épaisseur a été observée et mesurée au MEB en observant une coupe transversale de l'échantillon revêtu. Ce dernier a été enrobé dans une résine époxy puis poli à l'aide de papiers au carbure de silicium de granulométrie P320 à P2400, à la pâte diamantée 3 µm puis à l'OP-S (0,04 µm) (plus de détails dans la partie Matériels et Méthodes disponible en annexe A-2). Cinq images ont été enregistrées afin de déterminer une épaisseur moyenne du revêtement. Cependant les mesures n'étaient pas évidentes à réaliser en raison de la rugosité du substrat qui est de l'ordre de grandeur de l'épaisseur du revêtement. L'épaisseur a donc été estimée à environ 2 µm (Figure III-7). Il faut alors noter que cette valeur d'épaisseur correspond à notre cahier des charges et donc qu'un seul cycle d'immersions permet l'obtention d'un revêtement ayant l'épaisseur souhaitée.

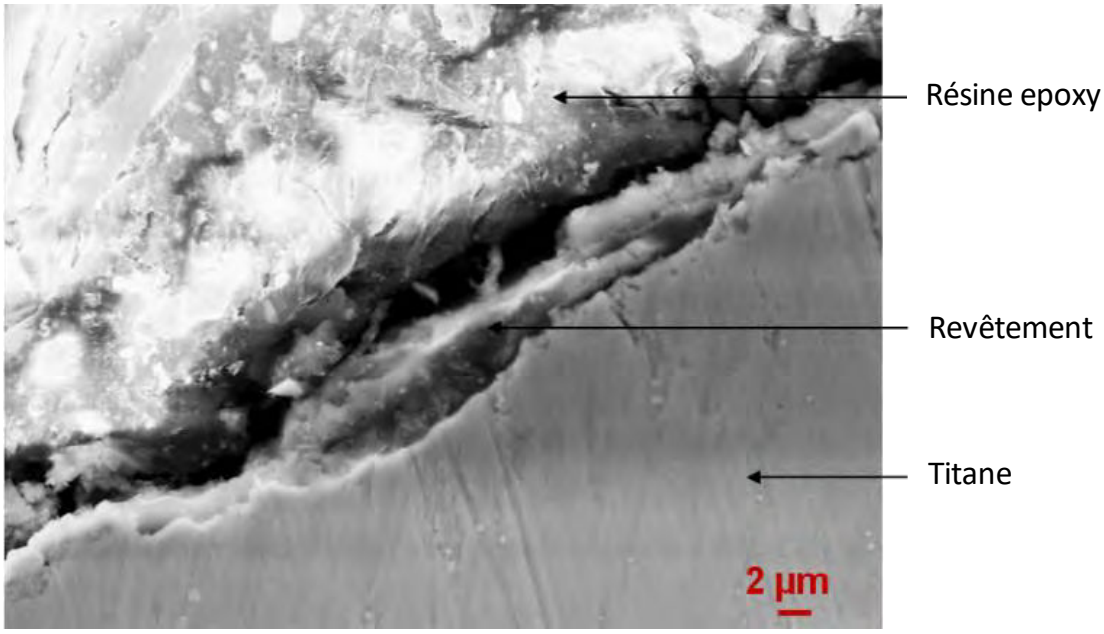
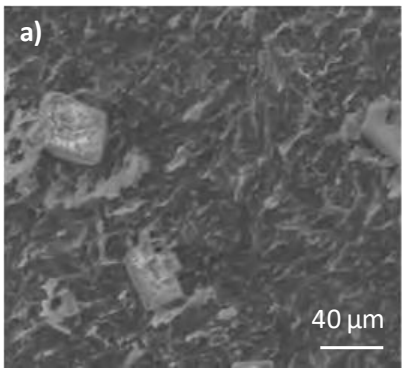
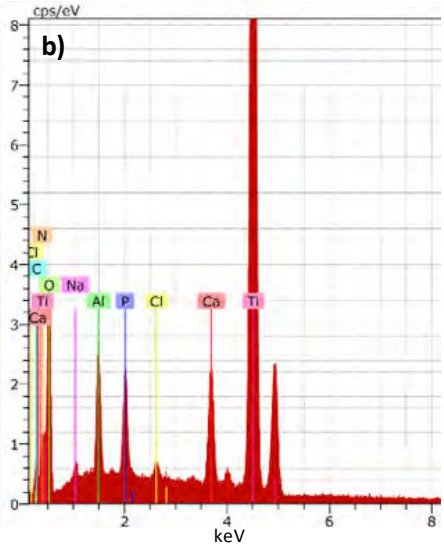


Figure III-7 : Micrographie MEB d'une coupe transversale polie d'un implant revêtu par immersions successives (500 rpm & 5 min) et enrobé dans une résine

Suite à l'observation de cristaux micrométriques sur certains échantillons revêtus (Figure III-8a), une caractérisation par EDX a été effectuée. Celle-ci a permis de mettre en évidence la présence de titane et d'aluminium, provenant du substrat et des particules de corindon enchâssées ; de phosphore et de calcium, permettant d'établir que le revêtement est constitué de ces éléments, mais également de sodium et de chlorure (Figure III-8b). Il est possible de localiser ces deux derniers éléments par cartographie EDX sur les cristaux cubiques observables au MEB (Figure III-8c, d et e). Ces cristaux semblent donc être du NaCl qui proviendrait de la recombinaison des deux contre-ions des sels utilisés comme source de phosphate et de calcium. Cela montre que les paramètres de lavage précédemment réalisés ne sont pas optimaux. Une nouvelle étude a donc été menée sur le lavage des implants après formation du revêtement. Comme dans les études précédentes, deux types de lavage ont été réalisés. Un premier lavage court sous agitation et un deuxième sans agitation mais pendant un temps plus long. Ces derniers doivent permettre d'enlever le surplus de solution de chlorure de calcium présent sur l'échantillon après immersion dans le second bain et ainsi dissoudre les éventuels cristaux de NaCl formés et/ou prévenir leur formation lors du séchage. Il faut noter que le deuxième type de lavage ne doit pas être trop long afin de ne pas modifier ou même dissoudre le revêtement de CaP formé. Les conditions pour lesquelles le revêtement de CaP était toujours présent mais où aucune trace de Na ni de Cl n'a été observée étaient trois lavages de 30 secondes sous agitation dans 400 mL d'eau déminéralisée suivi d'un lavage de 30 minutes dans un bain de 400 mL d'eau sans agitation.





El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
Ti	22	K-series	76.05	62.24	38.03	2.22
O	8	K-series	33.90	27.75	50.74	4.52
Ca	20	K-series	4.58	3.75	2.74	0.17
Al	13	K-series	2.75	2.25	2.44	0.16
P	15	K-series	2.23	1.82	1.72	0.11
C	6	K-series	1.76	1.44	3.51	0.39
Na	11	K-series	0.55	0.45	0.57	0.07
Cl	17	K-series	0.37	0.30	0.25	0.04

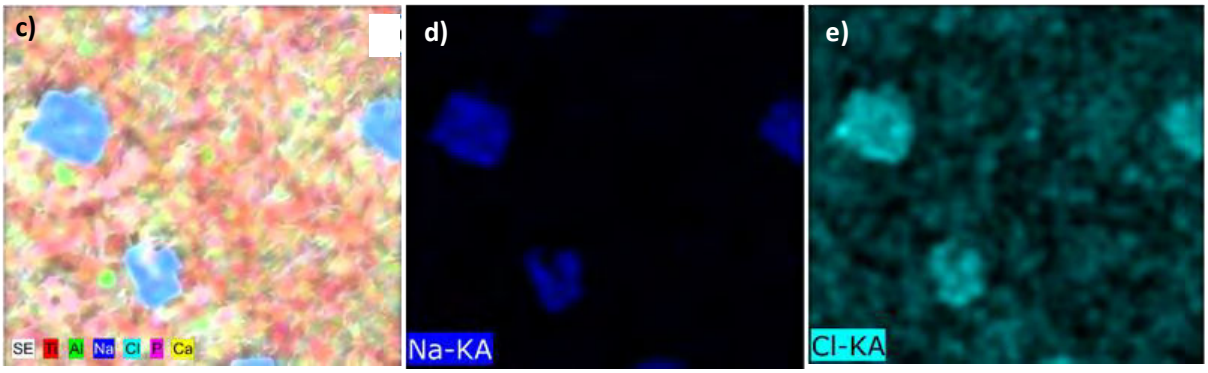


Figure III-8 : a) Micrographie MEB obtenue sur un échantillon revêtu par le procédé d'immersions successives et analyse EDX associée : spectre et tableau d'analyse élémentaire (b) et cartographies élémentaires (c, d et e)

Enfin, une fois que les paramètres permettant d'obtenir un revêtement de phosphate de calcium exempt de cristaux de NaCl ont été fixés, une étude a été réalisée concernant l'ordre des bains afin de voir une possible influence sur la phase de CaP formée. Ceux-ci ont été inversés : le premier bain était celui de calcium et le second celui de phosphate. Cependant aucun revêtement n'a été observé au MEB en accord avec les résultats obtenus lors d'études précédentes réalisées au CIRIMAT avec d'autres types de substrats en titane.

Pour conclure, la centrifugation mise en jeu dans ce procédé est une étape cruciale car elle semble déterminer la formation du revêtement, son épaisseur et son homogénéité. En effet, celle-ci permet de générer une fine couche de solution de phosphate à la surface de l'implant en titane qui, une fois immergée dans le bain de calcium, permet la formation d'un revêtement fin de phosphate de calcium. Dans le but d'obtenir un revêtement optimal, la solution de phosphate doit être répartie de façon homogène en termes d'épaisseur sur toute la surface de l'implant. A noter qu'une surface ayant une mouillabilité importante, comme établi dans le Chapitre II, semble être souhaitable pour une telle étape. La vitesse de rotation ainsi que le temps de centrifugation sont donc des paramètres critiques à contrôler. La centrifugation ne doit pas conduire à l'élimination du film liquide de solution de phosphate à cause d'une vitesse de rotation trop élevée. Elle ne doit pas non plus mener à la recristallisation du sel source de phosphate par séchage, à cause d'un temps de centrifugation trop important, car cela empêcherait la réaction de précipitation avec les ions calcium du second bain. Ces phénomènes peuvent se produire pour des temps de centrifugation et des vitesses de rotation élevés qui n'ont pas conduit à la formation d'un revêtement (Tableau III-1). Au contraire, sans centrifugation, la présence d'agglomérats a été attribuée à l'épaisseur incontrôlée du film de la solution de phosphate, conduisant à une précipitation d'agglomérats de CaP faiblement liés à la surface.

Il a donc été démontré ici que la centrifugation permet d'obtenir un revêtement couvrant par le procédé d'immersions successives et donc de s'affranchir d'un pré-traitement alcalin (NaOH) ainsi que d'un lavage intermédiaire entre les bains généralement décrits dans la littérature.

De plus, un protocole de lavage a été établi afin d'éviter la formation de cristaux de NaCl non désirés provenant des sels de phosphate et de calcium utilisés dans cette étude. Aussi, ce lavage a été optimisé dans le but de limiter le temps d'immersion de l'échantillon revêtu dans une solution aqueuse afin de prévenir son évolution ou sa dissolution.

Pour la suite de l'étude, les paramètres optimisés présentés sur la Figure III-9 seront utilisés pour la réalisation des revêtements par le procédé d'immersions successives.

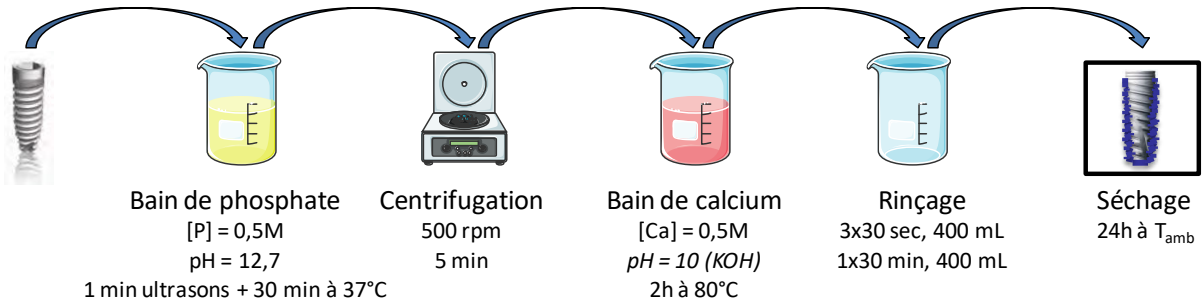


Figure III-9 : Etapes et conditions du procédé d'immersions successives établies pour notre étude après optimisation

III-2. Analyses chimique et structurale

Afin d'établir la présence d'un revêtement de CaP et d'en étudier la composition et la structure chimique, la diffraction des rayons X (DRX) ainsi que les spectroscopies FTIR et Raman ont dans un premier temps été mises en œuvre. Le rapport Ca/P a ensuite été déterminé par spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP) et le revêtement ainsi que l'interface substrat/revêtement ont été étudiés par spectrométrie de photoélectrons X (XPS).

La DRX en mode rasant (angle d'incidence de 1 °) a été utilisée afin d'obtenir une meilleure réponse pour le revêtement de CaP. Les diffractogrammes RX des trois composés de phosphate de calcium de référence (ns-HAP, DCPD et OCP), ainsi que celui de l'échantillon revêtu, sont présentés sur la Figure III-10. Les différentes phases de phosphates de calcium étudiées sont généralement facilement identifiables par DRX. En effet, l'OCP a un pic caractéristique aux bas angles (à $2\theta \cong 4$ °), le DCPD en a un à $2\theta \cong 12$ ° et la ns-HAP présente des pics peu intenses entre $2\theta = 45$ ° et 55 ° qui ne correspondent ni à l'OCP, ni au DCPD. Concernant le diffractogramme RX de l'échantillon revêtu, les pics principaux à 35 °, 38,5 ° et 40 ° sont attribués au titane constituant le substrat et à l'alumine. Ceci a confirmé que certaines particules de sablage sont encore enchâssées dans le substrat de titane, même après l'attaque acide mise en œuvre pour la préparation du substrat en titane, comme indiqué précédemment dans le Chapitre II. De plus, les deux pics à $2\theta \cong 41$ ° et 59,4 °, déjà observés lors du traitement de surface et notamment après l'attaque acide et discutés dans le Chapitre II, correspondent au TiH_2 en accord avec la fiche JCPDS n° 09-0371. Enfin, le pic le plus intense de l'OCP à $2\theta \cong 4$ ° et du DCPD à $2\theta \cong 12$ ° ne sont pas observés pour l'échantillon revêtu, ce qui pourrait indiquer l'absence de ces phases. Il faut néanmoins noter que le fond continu est particulièrement intense aux faibles angles de diffraction (fond continu corrigé sur la Figure III-10), ce qui complique l'identification de ces phases. Cependant, un large pic de faible intensité à $2\theta \cong 32$ ° ne correspondant ni au titane ni à l'alumine est identifié, qui pourrait être attribué à des pics de diffraction de CaP mal cristallisés (OCP ou ns-HAP). La faible intensité de ce pic est probablement due à la très faible épaisseur du revêtement et à sa faible cristallinité. Suite à cette étude, l'identification de ou des phases de CaP présentes dans le revêtement est difficile en raison de la faible intensité du ou des pics de diffraction attribués à celui-ci. Ces pics sont en effet noyés dans le fond continu du signal à cause des pics intenses provenant du substrat et des grains de corindon résiduels qui sont eux bien cristallisés (titane et alumine). Cette analyse met en exergue la difficulté de caractériser un revêtement fin sur un substrat rugueux. L'utilisation de micro-DRX a également été testée afin de tenter d'exalter la réponse due aux phases de phosphate de calcium présentes mais les résultats

obtenus étaient similaires. La détection des phases de phosphate de calcium présentes doit donc être confirmée en utilisant des techniques complémentaires.

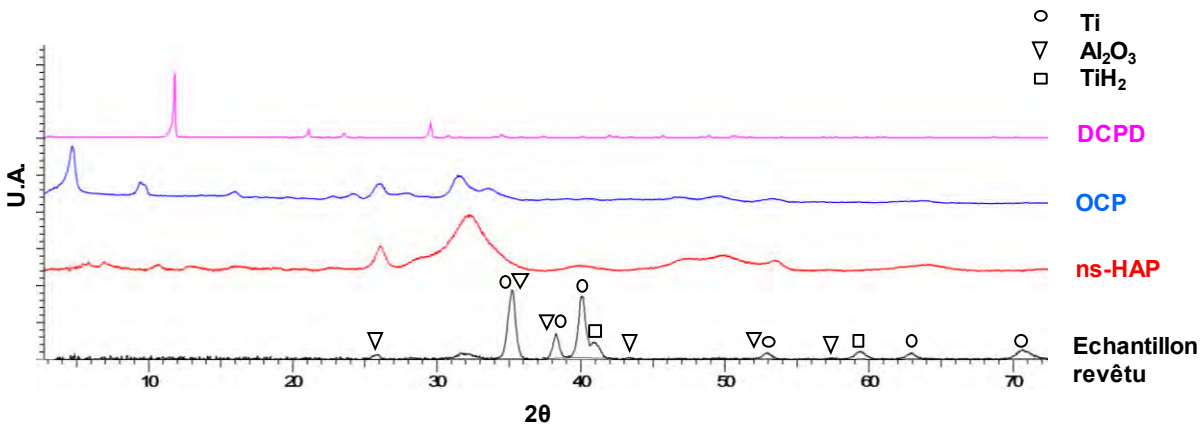


Figure III-10 : Diffractogrammes RX des composés CaP de référence (ns-HAP, DCPD, OCP) et de l'échantillon revêtu par immersions successives

Afin de poursuivre l'étude, la spectroscopie FTIR en mode ATR a été préférée car elle permet d'analyser le revêtement directement sur le substrat. De plus, il aurait été très difficile d'utiliser le mode transmission car les revêtements sont très fins; gratter la surface n'aurait pas permis de recueillir une quantité suffisante de poudre pour réaliser une pastille avec du KBr.

Les spectres FTIR-ATR des trois phases de phosphate de calcium de référence (ns-HAP, DCPD et OCP) et de l'échantillon revêtu sont représentés sur la Figure III-11.

D'une part, l'absence des bandes les plus intenses du DCPD correspondant aux modes de vibration ν_3 PO_4 à 1132, 1070-1060 et 984 cm^{-1} et d'une moins intense correspondant au mode de vibration ν_4 PO_4 à 525 cm^{-1} conforte l'hypothèse de l'absence de cette phase dans le revêtement.

D'autre part, le spectre de l'échantillon revêtu de CaP est similaire à celui de la ns-HAP de référence en raison de l'épaulement entre 1050 et 1150 cm^{-1} (ν_3 PO_4), ainsi que des deux bandes à 560 et 601 cm^{-1} (ν_4 PO_4). Cependant ces deux dernières pourraient également être attribuées à l'OCP. Il est, encore une fois, difficile de conclure sur l'identification des phases de phosphate de calcium constituant le revêtement. Même si la présence de ns-HAP semble évidente, l'OCP pourrait également être présent dans le revêtement. En effet, il est difficile de distinguer ces deux phases de phosphate de calcium car les structures chimiques de la ns-HAP et de l'OCP conduisent à des spectres proches. La résolution du spectre de l'échantillon revêtu est faible. Il semble en effet difficile d'avoir un bon contact entre le cristal de diamant du dispositif ATR et la surface de l'échantillon. La faible épaisseur du revêtement, sa faible cristallinité et la rugosité du substrat sont des facteurs limitants pour une caractérisation approfondie des échantillons revêtus de CaP en mode ATR.

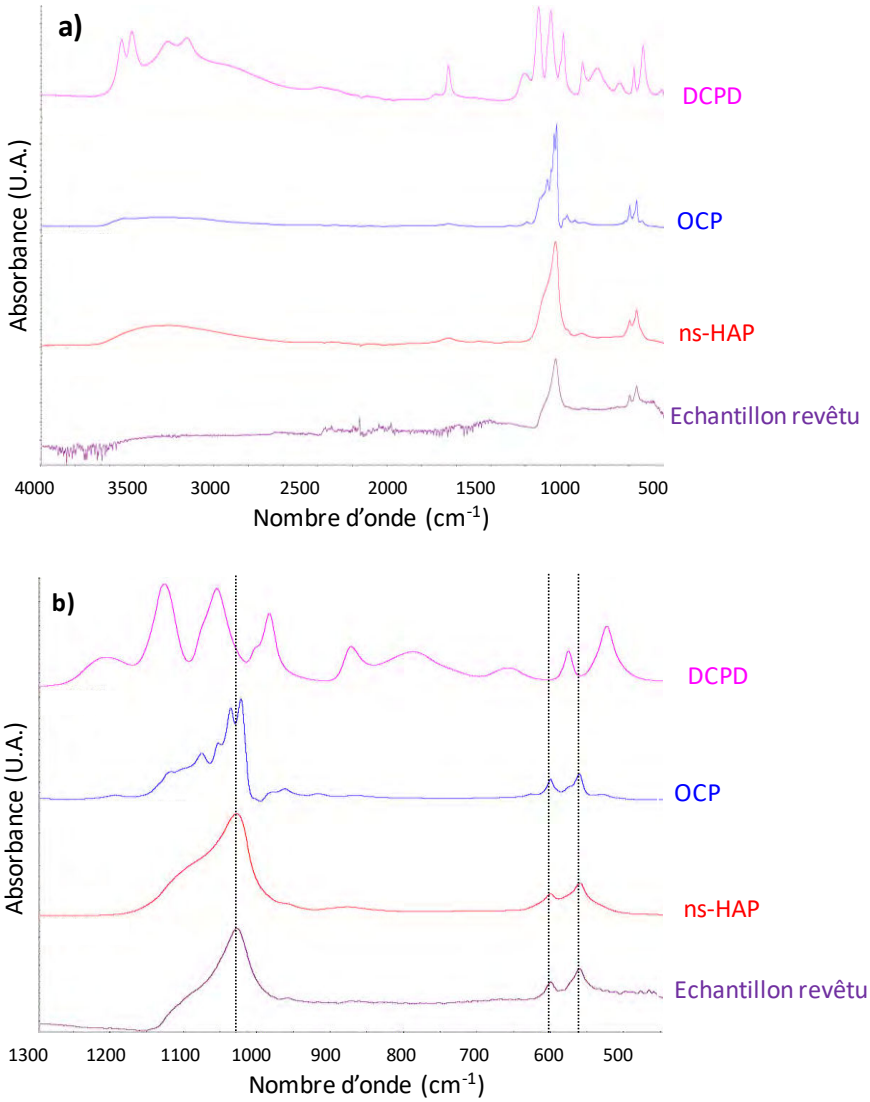


Figure III-11 : Spectres FTIR-ATR des phosphates de calcium de référence (ns-HAP, DCPD et OCP) et de l'échantillon revêtu : a) domaine spectral complet (4000-400 cm^{-1}) et b) domaine spectral de 1300 à 450 cm^{-1}

Il est possible de noter sur la Figure III-12b que la position de la bande relative au mode de vibration ν_1 des PO_4 pour le DCPD en spectroscopie Raman, observée sur le composé de référence à 986 cm^{-1}, est absente sur le spectre de l'échantillon revêtu. Son absence exclut la présence de DCPD, ce qui confirme les résultats obtenus par spectroscopie FTIR et DRX.

Ensuite, une bande intense apparait sur le spectre Raman de l'échantillon revêtu à environ 962 cm^{-1} (Figure III-12b). Cette bande est caractéristique du mode de vibration ν_1 des PO_4 de la ns – HAP observée à 961 cm^{-1}. Cependant la position des pics attribués à l'OCP sont proches (959 et 966 cm^{-1}) et ces deux pics pourrait être représentés par un seul pour un CaP mal cristallisé ou un spectre peu résolu. Il est alors difficile de discriminer clairement les composés ns-HAP et OCP car ces phases ont des structures étroitement apparentées. Néanmoins en nous intéressant aux bandes moins intenses correspondant aux modes de vibration ν_2 et ν_4 de l'OCP et de la ns-HAP (Figure

III-12a), il est possible de noter la présence d'une bande plus intense pour l'OCP que pour la ns-HAP à 409 cm^{-1}. Le spectre obtenu pour l'échantillon revêtu ne comprend pas cette bande, ce qui laisse supposer que le revêtement se compose de ns-HAP. De plus le pic à 3575 cm^{-1}, correspondant à la vibration des groupements OH^- de la ns-HAP, a été observé sur le spectre de l'échantillon (Figure III-12c). Par conséquent, la spectroscopie Raman indique plus clairement que le revêtement de CaP présent à la surface du substrat de Ti est à base d'apatite mal cristallisée non stœchiométrique analogue au minéral osseux (ns-HAP).

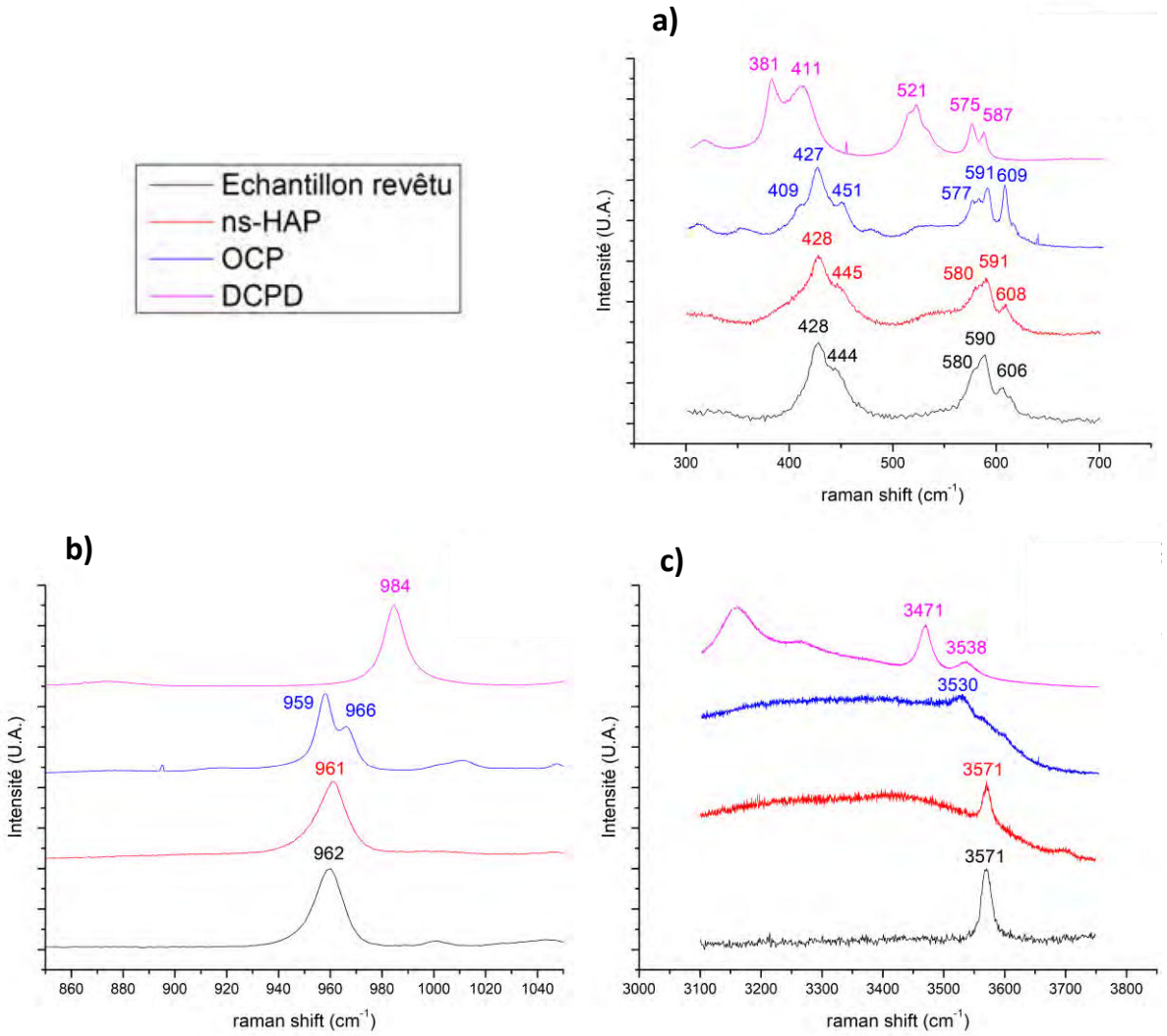


Figure III-12 : Spectres Raman (normalisés) des phosphates de calcium de référence (ns-HAP, DCPD et OCP) et de l'échantillon revêtu sur différents domaines spectraux : a) de 300 à 700 cm^{-1} ; b) de 850 à 1050 cm^{-1} et c) de 3100 à 3750 cm^{-1}

Pour conclure, nous avons pu noter la très grande difficulté d'identifier de façon irréfutable et indiscutable la phase de CaP composant le revêtement en raison des faibles épaisseurs et cristallinité du revêtement. Cela nécessite en effet l'utilisation de plusieurs techniques de caractérisation afin de comparer les résultats complémentaires obtenus. Le Tableau III-2 résume la présence des pics obtenus sur l'échantillon revêtu par ces techniques ainsi que leur identification par

rapport aux CaP de référence. Finalement l'absence de DCPD dans le revêtement a été démontrée par DRX et par spectroscopies FTIR et Raman. Le revêtement semble composé de ns-HAP et non d'OCP en raison de l'absence du pic caractéristique de l'OCP à $2\theta \cong 5$ ° dans le diffractogramme RX et de la présence de la bande caractéristique des OH^- de l'apatite à 3571 cm^{-1} sur le spectre Raman. Ce résultat est conforme à la littérature qui reporte la présence de revêtements d'apatite en utilisant un autre procédé d'immersions successives sur des substrats de titane [101]. Il faut également noter que ces caractérisations nous ont permis d'établir l'homogénéité chimique du revêtement au sein d'un même échantillon et d'échantillons de lots différents car aucun changement au niveau des résultats de ces analyses n'a été observé.

Tableau III-2 : Récapitulatif des pics observés en DRX et bandes en spectroscopies FTIR et Raman sur l'échantillon revêtu ainsi que leur indexation par rapport aux composés de référence (DCPD, OCP, ns-HAP). Sources pour l'indexation : fiches JCPD 01-072-0713 (DCPD), JCPD 00-026-1056 (OCP) et JCPD 00-046-0905 (ns-HAP) ainsi que [166]–[169]

	Observé sur l'échantillon	DCPD	OCP	ns-HAP	Identification
DRX	Large pic 31 – 33 °	31,3 (f-) (d_{21-1})	31,1 (mf+) (d_{251})	31,7 (tf+) (d_{211})	
		32,0 (f-) (d_{002})	31,5 (f+) (d_{260})	32,2 (mf+) (d_{112})	
		33,6 (f-) (d_{051})	31,7 (f+) (d_{2-41})	32,8 (f+) (d_{300})	
			32,2 (mf+) (d_{-1-42})		
			32,6 (f+) (d_{331})		
			33 (mf+) (d_{042})		
FTIR	1100 (ep.) 1050 (tf+)	-	1121 (f+) 1103 (f+) 1077 (f+) 1055 (f+) 1037 (tf+) 1023 (tf+)	1100 (ep.) 1050 (tf+)	v_1 PO_4
	601 (f+) 560 (f+)		601 (f+) 560 (f+)	601 (f+) 560 (f+)	P-OH des HPO_4^{2-}
Raman	428 (f+) 444 (mf+)	-	409 (mf+) 427 (f+) 451 (mf+)	428 (f+) 445 (mf+)	v_2 PO_4
	580 (ep.) 590 (mf+) 606 (mf-)	-	577 (ep.) 591 (mf+) 609 (mf+)	580 (ep.) 591 (mf+) 608 (mf-)	v_4 PO_4
	962 (tf+)	-	966 (f+) 959 (tf+)	961 (tf+)	v_1 PO_4
	3571 (f-)			3571 (f-)	OH

f- : faible ; mf- : moyennement faible ; mf+ : moyennement forte ; f+ : forte ; tf+ : très très forte ; ep. : épaulement

Afin de confirmer notre hypothèse selon laquelle le revêtement est composé de ns-HAP, le rapport Ca/P a été calculé après dosage de ces éléments par spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP). Pour cela trois échantillons sont immergés séparément dans 3 mL d'acide nitrique 2 % pendant 15 minutes et placés aux ultrasons afin de dissoudre le revêtement de CaP à leur surface. Ils sont ensuite immergés une deuxième fois dans ce même acide et placés 5 minutes dans un bain à ultrasons afin de récupérer tous les ions pouvant être présent à la surface de l'échantillon. Ces solutions acides sont ensuite récupérées afin d'être dosées. Le rapport Ca/P finalement obtenu en moyennant sur 3 échantillons est de 1,55 ± 0,09. Ce rapport étant compris entre 1,33 et 1,66, il correspond à celui d'une apatite non stœchiométrique déficiente en calcium (ns-HAP) équivalente à une apatite biomimétique d'un os jeune peu carbonaté. Ce résultat corrobore alors les analyses structurales précédentes.

Enfin, pour aller plus loin, une analyse XPS a été menée dans les mêmes conditions que celles décrites dans le Chapitre II. Brièvement des spectres sont réalisés à différentes profondeurs par abrasions successives de l'échantillon par faisceau d'ions argon. Cette mesure pourrait nous permettre d'identifier une nouvelle fois la phase de CaP composant le revêtement ainsi qu'une possible liaison chimique entre le substrat en titane et le revêtement de CaP.

Tout d'abord le spectre Ti2p du titane laisse apparaitre, dès le premier spectre c'est-à-dire sans abrasion, des pics à 665,08 et 459,08 eV traduisant encore une fois la présence de TiO_2 (Figure III-13a). Cela montre que le revêtement ne couvre pas entièrement le substrat de titane et confirme la présence de craquelures comme observées au MEB. L'évolution des spectres pendant l'abrasion indique, dès la première abrasion (profondeur hypothétique de 6 nm), avec l'apparition d'un pic à 453,88 eV la coexistence de TiO_2 et de titane métallique. Ensuite, plus l'échantillon est analysé en profondeur et plus la phase métallique du titane l'emporte sur la phase d'oxyde ce qui est conforme aux observations précédemment faites dans le Chapitre II.

Puis, il est possible de calculer le rapport Ca/P après chaque abrasion. Il faut alors noter que ce rapport est stable juste après la première abrasion qui permet l'élimination de la pollution de surface, indiquant alors que la phase de CaP formée ne varie pas dans la profondeur du revêtement. Le rapport Ca/P, moyenné sur toute l'épaisseur abrasée, donne un résultat de 1,91 ± 0,12. Ce résultat est différent de celui donné par spéctrométrie ICP. L'XPS permet en effet ici une analyse semi-quantitative conduisant à des valeurs de rapport Ca/P que l'on peut comparer entre elles mais qui ne peuvent pas être considérées comme valeurs absolues/réelles du phosphate de calcium étudié comme le montrent d'autres auteurs [170], [171].

Ensuite, le spectre Ca2p (Figure III-13a) présente un pic entre 347,7 et 347,9 eV pouvant correspondre au $Ca2p_{3/2}$ de différents phosphates de calcium à savoir TCP, HAP, ACP, OCP et DCPD

[148], [170]. Il en est de même pour le pic présent entre 133,5 et 134,1 eV sur le spectre P2p (Figure III-13 b). Ces résultats indiquent que le revêtement est bien sous une forme de phosphate de calcium comme précédemment démontré mais ne permet pas d'en donner la nature exacte. Cependant un point intéressant à noter est l'apparition d'une bande sur le spectre P2p à 128,9 eV qui croit au fur et à mesure du temps d'abrasion *i.e.* du niveau de la profondeur de l'échantillon analysé. Ce pic rapporté par *Myers et al.* à 128,4 eV [172] et par *Baunack et al.* à 128,7 ± 0,2 eV est assimilé à une liaison Ti-P [173]. Deux hypothèses peuvent alors être formulées : la première consisterait en une liaison chimique entre le substrat et le revêtement et la deuxième reposerait sur un artefact lié à la mesure. Cela sera discuté plus en détail dans la partie III-5.

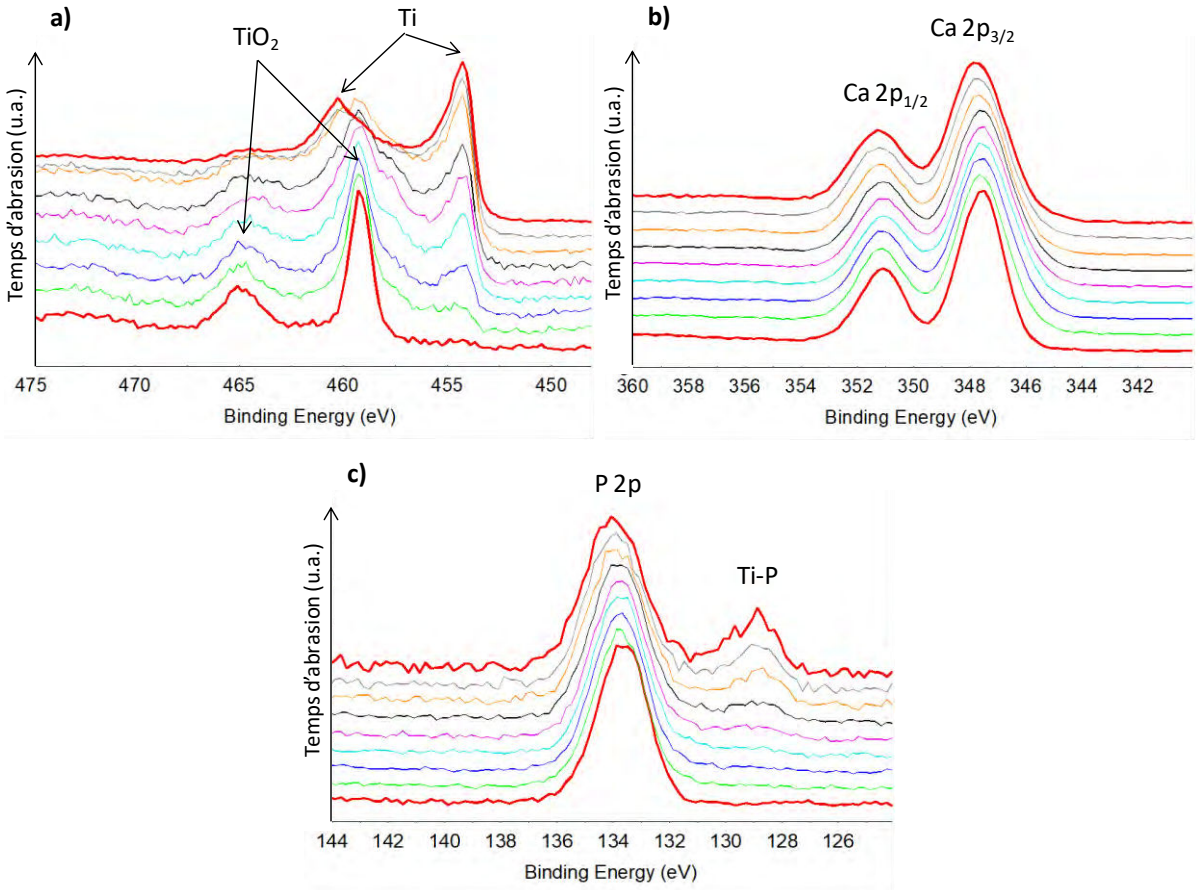


Figure III-13 : Spectres XPS réalisés sur le revêtement élaboré par immersions successives après différents temps d'abrasion de : a) Ti2p b) Ca2p et c) P2p

III-3. Caractérisations topographiques de la surface

La rugosité de surface des échantillons revêtus n'a pas pu être évaluée par la méthode interférométrique car le faisceau lumineux n'était pas réfléchi par le revêtement et passait à travers celui-ci. C'était donc la rugosité du substrat qui était mesurée. Un essai a également été effectué en

métallisant la surface de l'échantillon mais le même problème a été rencontré. Afin de s'affranchir de cela, un profilomètre mécanique utilisant une pointe de 2 µm de diamètre a été utilisé. L'idée ici est de comparer la rugosité du substrat à celle du substrat revêtu. Il est possible d'observer que les valeurs de Ra, Rq et Rz obtenus pour le substrat (Tableau III-3) par cette technique sont inférieures aux valeurs de Sa, Sq et Sz mesurées par interférométrie (Tableau II-11). Ceci s'explique par le fait que le balayage de la surface par la pointe est limité par son diamètre (ici 2 µm) et ne peut donc pas décrire des rugosités de taille inférieure alors que le faisceau de lumière utilisé en interférométrie le peut. Les valeurs de Rku et Rsk mesurées par le profilomètre sur le substrat sont similaires à celles obtenues par interférométrie à savoir supérieure à 3 et inférieure à 0 respectivement. De plus, on peut noter que la rugosité mesurée sur la surface revêtue est semblable à celle non revêtue. Comme déjà observé au MEB, le revêtement est fin et suit la rugosité du substrat. L'étape de revêtement n'induit donc pas de changement notable au niveau de la rugosité de surface de l'échantillon par rapport au substrat initial.

Tableau III-3 : Paramètres de rugosité obtenus par profilomètre mécanique sur un substrat non revêtu et revêtu par immersions successives

Paramètres de rugosité	Substrat	Substrat revêtu
Ra (µm)	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1
Rq (µm)	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Rz (µm)	7,5 ± 0,4	7,4 ± 0,9
Rsk	- 0,3 ± 0,4	- 0,2 ± 0,3
Rku	3,3 ± 0,6	3,1 ± 0,5

La mouillabilité de l'échantillon a été évaluée après 10 minutes d'exposition aux UV. En effet, cette exposition permet d'effacer l'histoire de la surface du revêtement qui peut être plus ou moins polluée par l'air ambiant en fonction de la durée entre la formation du revêtement de CaP et la mesure de l'angle de goutte et donc d'avoir des mesures répétables. Il a été impossible de mesurer l'angle de goutte car la goutte s'est, encore une fois, étalée complètement révélant donc une surface très hydrophile.

L'obtention d'une surface hydrophile et présentant une rugosité comprise entre 1 et 2 µm après la mise en place du revêtement pourra être un atout pour favoriser l'ostéointégration de l'implant.

III-4. Etude de l'adhérence revêtement/substrat

Une adhérence suffisante du revêtement au substrat est une propriété clé afin que ce revêtement ne se délamine pas lors de l'implantation et joue intégralement son rôle après l'acte chirurgical. Plusieurs méthodes ont été envisagées pour mesurer l'adhérence du revêtement. Un test de micro-traction *in situ* dans un MEB a par exemple été envisagé pour visualiser les phénomènes de délamination. Cependant, la géométrie des éprouvettes nécessaires pour effectuer ce test n'était pas compatible avec le procédé de revêtement. Un essai de scratch test a également été mis en place, mais n'a pas donné de résultats concluants.

Finalement, un test de vissage / dévissage a été réalisé. Celui-ci consiste à imiter une procédure d'implantation dans une mâchoire artificielle constituée de polymère fournie par le partenaire industriel et fabriquée par le laboratoire de prothèse GF Dental (Italie) (Figure III-14). En effet, cette dernière est percée et taraudée en fonction de la longueur et du diamètre de l'implant puis l'implant y est inséré. Ces actions sont réalisées suivant les mêmes couples de vissage et vitesses de rotation (Figure III-15) et en utilisant les mêmes outils que les praticiens lors de la pause d'un implant dentaire. L'implant, une fois vissé, est laissé quelques heures dans la mâchoire puis retiré. L'échantillon est ensuite nettoyé à l'air comprimé afin d'éliminer au mieux les particules résiduelles provenant de la mâchoire artificielle. Enfin, la surface de l'implant est observée au MEB afin de constater l'endommagement ou non du revêtement.

Figure III-14 : Photographies de la mâchoire artificielle

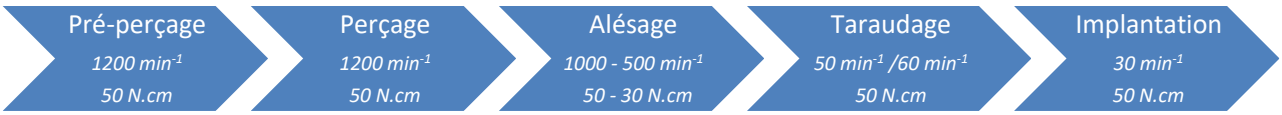


Figure III-15 : Protocole suivi lors de l'implantation dans la mâchoire artificielle

Après le test mécanique de vissage / dévissage de l'implant dans la mâchoire artificielle, aucun dommage au niveau du revêtement n'a été constaté au fond du filetage de l'implant (Figure III-16a). Cependant, certaines particules peuvent être observées au-dessus du revêtement. D'après

l'analyse par EDX, celles-ci ne contiennent ni phosphore, ni titane. Ces particules sont des débris de la mâchoire artificielle (résine polymère) qui sont restés collés à l'implant. Le haut du filetage étant entièrement recouvert par la résine de la mâchoire artificielle (Figure III-16b), cela rend impossible l'observation du revêtement. Néanmoins, nous pouvons supposer que le revêtement est toujours présent en dessous de cette couche de résine. Le fait que la résine reste collée à l'implant pourrait s'expliquer par un échauffement à l'interface implant / mâchoire lors du vissage et du dévissage qui peut faire fondre partiellement le polymère. De plus, l'analyse EDX d'une coupe de la mâchoire permettant l'accès à la surface en contact avec l'implant n'a pas mis en évidence la présence de phosphore ; le calcium étant présent car c'est un élément constitutif de la mâchoire artificielle.

La stabilité mécanique du revêtement a donc été démontrée malgré la présence de craquelures qui avaient été observées au MEB après élaboration du revêtement (Figure III-6). Cette stabilité est probablement due à l'ancrage mécanique du revêtement fin sur le substrat grâce à la rugosité de surface générée par le sablage et le mordançage et/ou à une liaison chimique entre le substrat de titane et le revêtement.

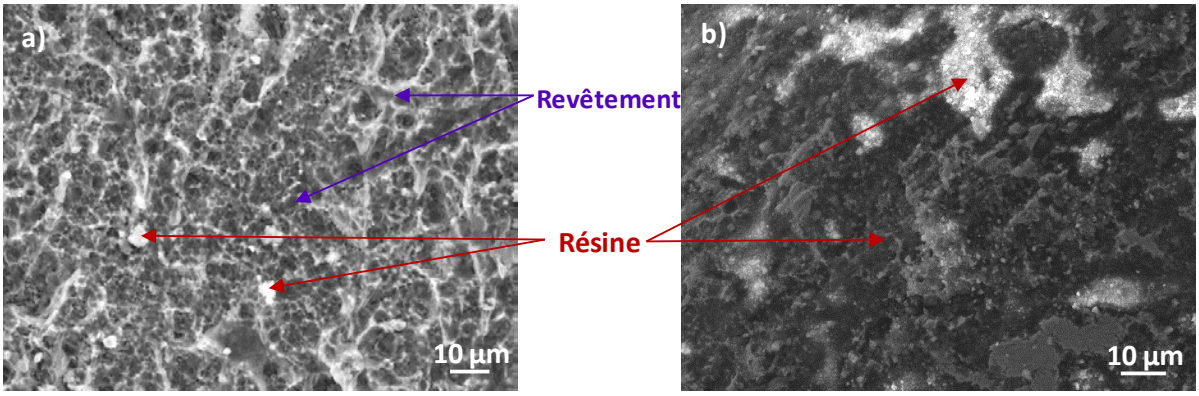


Figure III-16 : Micrographies MEB de la surface de l'implant revêtue de CaP après le test de vissage / dévissage a) au fond du filetage et b) au sommet du filetage

III-5. Discussion et résumé

Pour conclure avec cette étude du procédé d'élaboration du revêtement de phosphate de calcium par immersions successives, il a pu être démontré que la centrifugation, étape et technique choisies dans ce travail, permet la mise en place d'un revêtement fin de phosphate de calcium sur des implants en titane. Cette étape et les paramètres de la centrifugation associés sont les éléments clés de ce procédé et doivent être adaptés pour une géométrie et une surface d'échantillon données.

Le revêtement obtenu est fin (environ 2 µm) et suit la topographie du substrat menant à une rugosité comprise entre 1 et 2 µm compte tenu du substrat employé dans l'étude. Le revêtement se compose d'apatite biomimétique, une apatite sous stœchiométrique analogue au minéral osseux. Malgré les fissures observées dans le revêtement, la tenue mécanique de ce dernier a été démontrée par un test de vissage/devissage dans une mandibule artificielle. Finalement, une surface très hydrophile est obtenue pouvant s'expliquer par la rugosité ainsi que par la composition chimique de la surface.

En résumé, l'implant revêtu possède des caractéristiques physico-chimiques que sont la rugosité, la composition chimique de surface ainsi que la mouillabilité qui sont intéressantes afin d'améliorer son ostéointégration.

Nous nous intéresserons maintenant plus particulièrement au mécanisme de croissance du revêtement. Comme dit précédemment les paramètres de centrifugation sont importants car cette étape permet de former un film liquide contenant les ions phosphates qui vont ensuite réagir avec les ions calcium du second bain pour former le revêtement. La rugosité du substrat est donc un paramètre important car elle permet de retenir ou non cette couche liquide à la surface de l'échantillon lors de la centrifugation.

Cependant dans cette étude, il a été démontré qu'un revêtement était formé uniquement lorsque le bain de phosphate était placé en première position alors qu'aucun revêtement n'a été observé quand le bain de calcium l'était. Il a été suggéré que les ions phosphates pouvaient réagir avec la couche de TiO_2 [174]–[177]. Nous avons cherché à évaluer la possibilité d'une telle réaction et à déterminer son effet sur la formation du dépôt.

Etape 1 : Immersion dans le bain de phosphate

Lorsque l'échantillon, composé en surface de TiO_2, est immergé dans une solution aqueuse, le TiO_2 est hydrolysé (équation (III.1)) formant ensuite des complexes amphotères pouvant montrer des propriétés acides ou alcalines en accord avec les équilibres décrits par les équations (III.2) et (III.3) [160], [178].

$$\mathrm{Ti-O} + \mathrm{H_2O} \leftrightarrow \mathrm{Ti-(OH)_2} \quad \text{(III.1)}$$

$$\mathrm{Ti-OH} + \mathrm{H_2O} \leftrightarrow [\mathrm{Ti-O}]^- + \mathrm{H_3O^+} \quad \text{(III.2)}$$

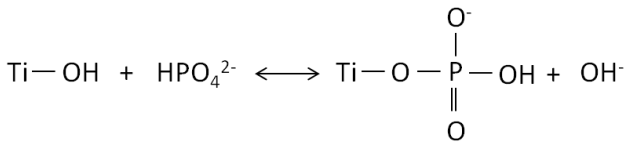
$$\mathrm{Ti-OH} + \mathrm{H_2O} \leftrightarrow [\mathrm{Ti-OH_2}]^+ + \mathrm{OH^-} \quad \text{(III.3)}$$

L'équilibre des équations (III.2) et (III.3) dépend principalement du pH de la solution à laquelle le TiO_2 est exposé et du point de charge nulle (PCN) de ce dernier : si le pH est supérieur au PCN alors la réaction (III.2) sera favorisée alors que s'il est inférieur ce sera la réaction (III.3). Dans notre cas, sachant que le point de charge nulle du TiO_2 est compris entre 3,5 et 6,9 [179] et que le bain de phosphate possède un pH d'environ 12,7 et donc une importante proportion d'ions OH^-, la majorité de la surface est alors chargée négativement [178].

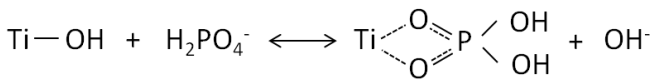
Les travaux expérimentaux décrits dans la littérature consistant à étudier la croissance des CaP sur du titane lors de son immersion dans des solutions aqueuses contenant des ions calcium et phosphates à pH physiologique (pH = 7,2-7,4) montrent que ce sont les espèces phosphates ($H_2PO_4^-$ et HPO_4^{2-}) qui sont présentes en premier sur l'oxyde de titane lors de la croissance d'une couche de CaP sur ce dernier [160], [180]. Les auteurs soulignent que la surface, chargée négativement, devrait attirer les cations et non les anions. Cela permet alors de mettre en évidence une forte affinité des phosphates avec l'oxyde de titane [175]. De plus, *Connor et al*. rapportent une liaison forte entre les phosphate et l'oxyde de titane car les phosphates sont toujours présents en surface après lavage et ont du mal être désorbés [174]. Ces résultats sont en accord avec notre étude car les surfaces sont également chargées négativement (pH > PCN) et les ions phosphates semblent avoir plus d'affinité que les ions calcium avec le substrat principalement composé de TiO_2.

De là, plusieurs mécanismes de liaison entre les ions phosphates et le TiO_2 ont été proposés. Les auteurs suggèrent que les sites d'adsorption de phosphate sont des sites d'acide de Lewis, et qu'une réaction d'échange avec des groupements hydroxyle permet de former des structures Ti-H_2PO_4 et Ti-HPO_4^- [175], [177].

La liaison des ions phosphate aux Ti (IV) à la surface de TiO_2 est décrite par un attachement bidenté ou monodenté [174] selon les réactions suivantes [160], [175] :



(III.4)



(III.5)

Dans notre cas, les ions présents en solution sont HPO_4^{2-} et PO_4^{3-} car le bain est à pH 12,7, en accord avec la Figure I-18. De plus, la surface est chargée négativement comme expliqué précédemment impliquant alors une prédominance des groupes $[Ti - O]^-$ par rapport aux

groupements [Ti - OH]. Nous pouvons donc écrire, en accord avec l'équation (III.4), la réaction suivante dans le cas des ions HPO_4^{2-} :

$$[\mathrm{Ti-O}]^- + \mathrm{HPO_4^{2-}} \leftrightarrow \mathrm{Ti-O-PO_3^{2-}} + \mathrm{OH^-} \quad \text{(III.6)}$$

Concernant les ions PO_4^{3-}, nous pouvons supposer : d'une part, qu'aucune liaison ne se crée entre cet ion et l'oxyde de titane et, d'autre part, qu'il puisse réagir avec les groupements [Ti-OH] même si ces derniers sont supposés moins présents. Cela permettrait ainsi d'écrire :

$$\mathrm{Ti-OH} + \mathrm{PO_4^{3-}} \leftrightarrow \mathrm{Ti-O-PO_3^{2-}} + \mathrm{OH^-} \quad \text{(III.7)}$$

Une liaison Ti-O-P est néanmoins mise en jeu ici et ne permet donc pas d'expliquer la liaison Ti-P identifiée par XPS. Ce type de liaison est décrite lors de la mise en œuvre d'un traitement thermique après dépôt de CaP sur le titane ou lors d'utilisation de procédés à haute température [181], [182], ce qui ne correspond toutefois pas à notre cas ni au procédé mis en oeuvre. *Kim et Ducheyne* démontrent en effet la présence de phosphure de titane (TiP) après un frittage à 925 °C durant 2 h sous vide d'un revêtement de CaP réalisé sur un substrat de titane par méthode électrophorétique [181]. Ils montrent que lors du frittage, une couche de Ti-P stable est formée à la suite de la diffusion de P de la céramique dans le substrat métallique. De plus, la diffusion de cet élément est bien plus importante en terme de quantité et de profondeur par rapport à celle du calcium ou de l'oxygène. *Durdu et al.* montrent quant à eux la formation de TiP_2 et Ti-P lors de la formation d'un revêtement de CaP par le procédé d'oxydation électrolytique au plasma (plasma electrolytic oxidation – PEO) qui met en œuvre des températures très élevées de l'ordre de 2000 à 10 000 K [182]. La liaison Ti-P démontrée lors de l'analyse XPS dans notre étude peut être associée à une diffusion du phosphore dans le titane. N'utilisant pas des températures élevées lors du procédé, cette diffusion pourrait être due à la méthode de caractérisation XPS mettant en œuvre une énergie importante, notamment lors de l'abrasion de la surface par les ions argon pour l'étude du profil de composition de l'échantillon, et qui pourrait donc permettre la diffusion du phosphore dans le titane durant l'analyse et donc au fur et à mesure de l'abrasion (la bande correspondant à Ti-P augmente bien avec le temps d'abrasion, cf. Figure III-13). Cela est en accord avec le fait que le phosphore diffuse plus facilement que le calcium ou l'oxygène dans ce type de substrat.

Etape 2 : Centrifugation

Suite à l'immersion de l'échantillon dans le bain de phosphate pouvant conduire à une liaison chimique entre les ions et le substrat, l'étape de centrifugation permet d'éliminer le surplus de solution afin de former une fine couche liquide continue contenant les ions phosphates.

Etape3 : Immersion dans le bain de calcium

L'immersion dans le second bain contenant les ions calcium à pH 10 (présence importante d'ions OH^-) permet alors la précipitation d'une apatite non-stœchiométrique et la réaction peut alors s'écrire :

$$(10-x)Ca^{2+} + xHPO_4^{2-} + (6-x)PO_4^{3-} + (2-x)OH^- \rightarrow Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}OH_{2-x} \quad \text{avec } 0 < x < 2 \qquad \text{(III.9)}$$

Le temps d'immersion de 2 h pourrait également permettre la maturation d'une phase précurseur initialement formée : amorphe ou OCP vers une phase apatitique, d'homogénéiser la composition chimique de cette apatite ainsi que d'augmenter sa cristallinité. On peut aussi concevoir que l'interface Ti-O-PO_3 précédemment décrite dans l'étape 1 favorise la croissance cristalline directe d'une apatite.

Afin d'expliquer le fait qu'un revêtement soit observé uniquement lorsque le bain de phosphate est placé en première position, plusieurs hypothèses sont possibles.

En effet, la liaison Ti-O-P décrite précédemment permettrait de retenir les ions phosphates lors de la centrifugation. Cela ne concerne qu'une monocouche et ne s'applique donc pas à l'ensemble du film liquide formé contenant les ions phosphates.

Toutefois, cette monocouche d'ions phosphate éventuellement liés à la surface du TiO_2, ne semble pas permettre d'expliquer la formation de la phase apatitique car cette dernière mobilise nécessairement les ions phosphate libres de la phase mobile à la surface de l'implant. Il est alors probable que, d'une part cette liaison Ti-O-P permettant de fixer les ions phosphates à la surface de l'implant lors de l'immersion dans le bain de calcium, et que d'autre part, la vitesse de diffusion, potentiellement plus rapide des ions Ca^{2+} que celle des ions phosphate, facilite la précipitation dans le film d'ions phosphate à proximité immédiate de la surface alors que pour la réaction inverse (couche de Ca^{2+}, puis solution de phosphate), la précipitation en solution est favorisée.

Etape 4 : Rinçage et séchage

Enfin, le rinçage permet d'éliminer les contre ions des sels utilisés voire de dissoudre les composés formés (ici NaCl). Un séchage doux permet également de limiter le nombre et la taille des craquelures dues à l'évaporation trop rapide de l'eau contenue dans le revêtement à la fin du procédé.

Un schéma du mécanisme de formation du revêtement incluant l'ensemble de ces étapes est proposé sur la Figure III-17.

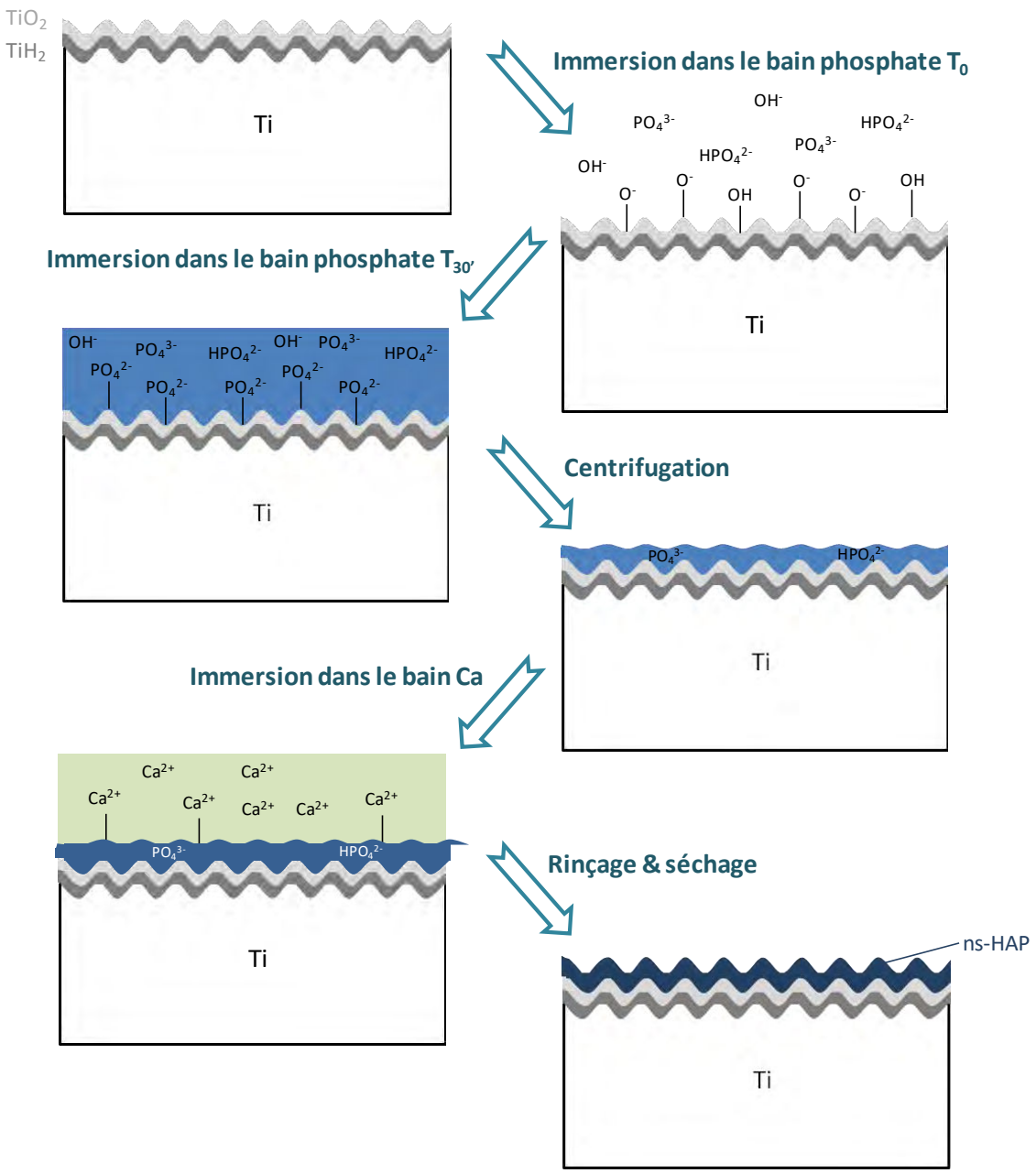


Figure III-17 : Schéma du mécanisme de formation du revêtement de phosphate de calcium étape par étape selon le procédé d'immersions successives

Ce procédé de revêtement met en œuvre dans un premier temps un bain de calcium à un pH égal à 10, une température de 37 °C et une immersion de 30 minutes. L'échantillon subit par la suite une étape de centrifugation où une vitesse de centrifugation de 500 rpm ainsi qu'un temps de centrifugation de 5 minutes ont été sélectionnés comme les paramètres optimaux. Par la suite, l'échantillon est immergé dans un bain de phosphate pendant 2 heures à 80 °C avant d'être rincés et séchés. Le procédé d'immersions successives permet ici la formation d'un revêtement d'apatite sous stœchiométrique analogue au minéral osseux, d'une épaisseur de 2 µm, qui ne modifie pas la rugosité du substrat de façon significative et qui permet de conserver une mouillabilité de surface élevée. Dans le chapitre suivant, un autre procédé de revêtement, l'électrodéposition, sera étudié.

Chapitre IV

Elaboration d'un revêtement de phosphate de calcium par électrodéposition

Comme précédemment explicité dans la partie I-5-2-b, l'électrodéposition est un procédé largement utilisé dans le domaine industriel et pour des applications variées. L'électrodéposition est une technique de choix concernant la mise en place de revêtement de phosphate de calcium sur des implants métalliques. En effet, ce procédé opérant à basse température est simple à mettre en place, il permet de traiter des formes complexes, et d'obtenir des phases de phosphate de calcium diverses en fonction des conditions expérimentales choisies. Dans notre cas, nous souhaitons privilégier les phases métastables dans les conditions de pH et température physiologiques à savoir la brushite (DCPD), le phosphate octocalcique (OCP) et l'apatite biomimétique (ou non-stœchiométrique (ns-HAP)). Les paramètres influençant ce procédé ont été étudiés dans le but de les adapter afin de répondre au mieux au cahier des charges pour le revêtement souhaité.

IV-1. Elaboration du revêtement et étude paramétrique

Le montage permettant de réaliser l'électrodéposition est un montage incluant trois électrodes et constitué des éléments suivants (Figure IV-1) :

- Un potentiostat/galvanostat *SI 1287 (Solartron)* permettant d'appliquer un potentiel ou un courant ;
- Un bécher double enveloppe relié à un bain thermostaté permettant de réguler la température de l'électrolyte ;
- Un agitateur magnétique afin d'imposer une agitation continue dans l'électrolyte de sorte à éviter une limitation des réactions due à la diffusion des espèces ;
- Une électrode de référence au calomel saturé (ECS) ;
- Un panier de platine utilisé comme contre-électrode (CE);
- L'échantillon qui est placé concentriquement à la CE et fait office d'électrode de travail.

L'échantillon (implant ou cale) est mis en place grâce à une vis insérée dans celui-ci et recouvert d'une gaine thermo-rétractable permettant d'isoler électriquement la vis de la solution. L'électrode de référence est donc placée sur le côté de la cellule électrochimique et l'échantillon au milieu du panier en platine. La géométrie du montage a été conservée pour toutes les expériences. Ce montage est illustré par le schéma et les photographies de la Figure IV-1.

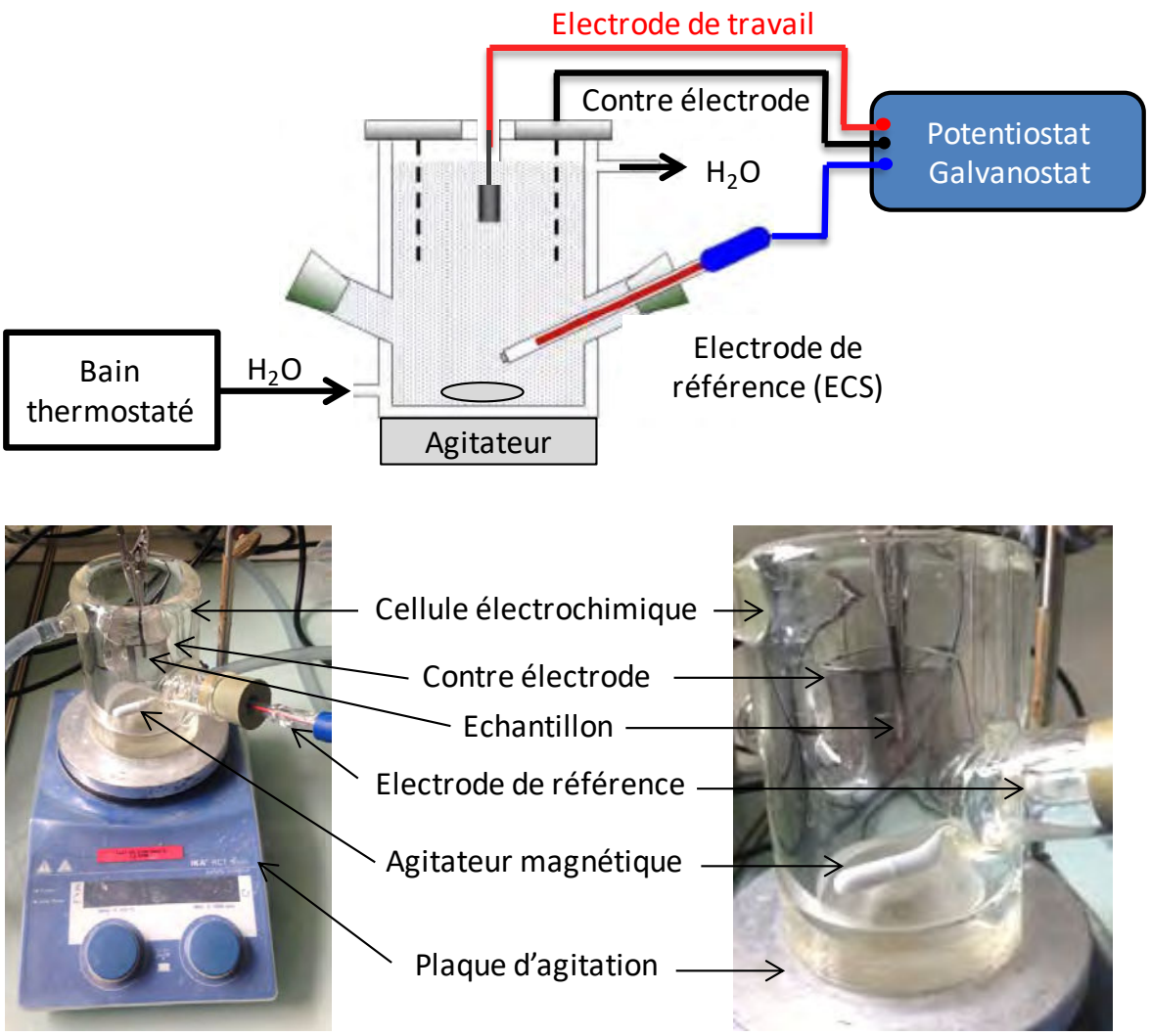


Figure IV-1 : Schéma et photos du montage du procédé d'électrodéposition mis en œuvre pour cette étude

Comme pour l'étude menée avec le procédé par immersions successives décrite dans le Chapitre III, une étude paramétrique des différentes étapes du procédé est nécessaire afin de les optimiser dans le but de répondre au mieux au cahier des charges du revêtement. Cette étude permet aussi de tester la robustesse du procédé et de mettre en exergue les principaux verrous technologiques liés à la mise en forme d'un revêtement de CaP sur les implants dentaires. Ici, il y a deux étapes critiques à savoir la préparation de la solution électrolytique et les paramètres imposés lors de l'électrodéposition. Les différents paramètres des 4 étapes constituant le cycle d'électrodéposition qui ont été étudiés sont résumés dans le schéma présenté sur la Figure IV-2.

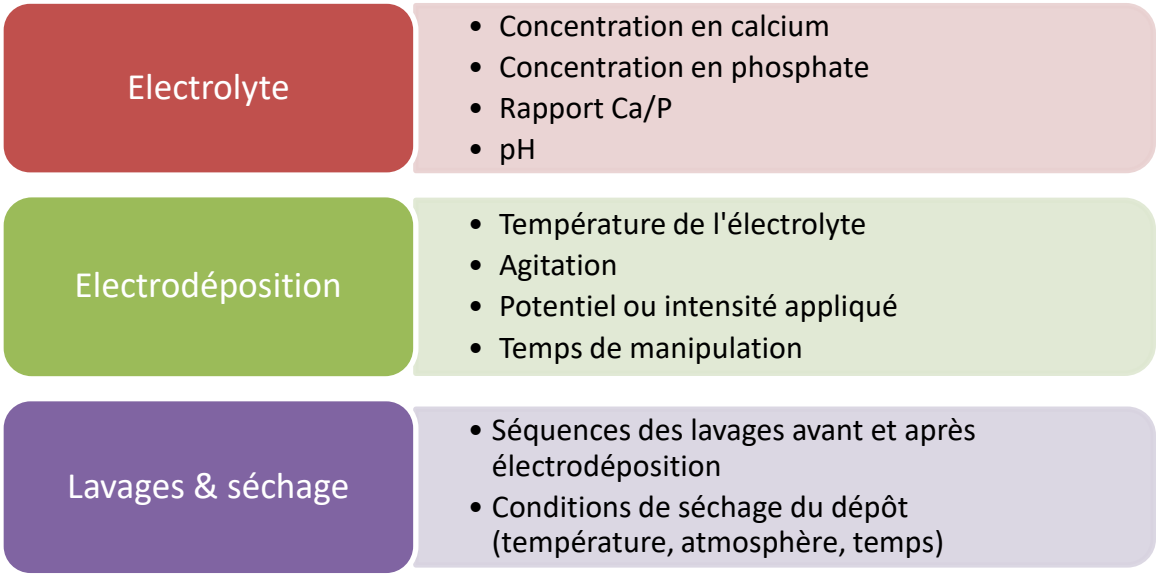


Figure IV-2 : Représentation schématique des différentes étapes du procédé d'électrodéposition ainsi que des paramètres associés à chacune d'elles

Ainsi une séquence d'électrodéposition comporte un cycle de nettoyage du substrat, une étape d'électrodéposition, un cycle de rinçage du dépôt, et enfin une étape de séchage de ce dernier. Avant chaque électrodéposition, les échantillons sont lavés comme décrit dans la partie précédente à savoir : 2 fois 5 minutes aux ultrasons dans des bains d'eau déminéralisée puis 1 fois 5 minutes aux ultrasons dans un bain d'éthanol. Les échantillons sont ensuite placés à l'étuve 20 minutes à 60 °C afin d'être séchés. Ils sont ensuite exposés au rayonnement UV durant 10 minutes afin d'augmenter la mouillabilité de surface comme expliqué dans le Chapitre II.

Les étapes de post-dépôt visent à assurer qu'aucun contre ion n'est présent dans le dépôt ; celles-ci ont été définies a priori de sorte à en limiter le temps et l'impact. Les échantillons sont lavés dans un bain d'eau déminéralisée pendant 30 secondes sous agitation. Ce paramètre n'a pas été optimisé car aucun élément non voulu, tel que des nitrates, n'a été observé lors des caractérisations décrites par la suite. Ce rinçage est donc efficace. Cette étape est suivie d'une étape de séchage réalisée à température ambiante pendant 24 heures.

Afin d'établir l'effet des conditions opératoires, nous avons choisi de conduire une étude paramétrique complète. Ainsi le premier paramètre étudié est le temps d'électrodéposition, les autres paramètres étant fixés puis nous établirons successivement l'effet du potentiel appliqué, de la température de l'électrolyte, de la concentration en calcium et en phosphore ainsi que du rapport Ca/P et de l'agitation de l'électrolyte.

IV-1-1 Temps de dépôt

L'état de l'art a permis de définir la préparation d'un électrolyte avec un rapport Ca/P égal à 1,67 correspondant à celui d'une hydroxyapatite stœchiométrique [104], [105]. Pour cela une solution est préparée à l'aide de nitrate de calcium tétrahydraté ($Ca(NO_3)_2,4H_2O$) permettant d'obtenir une concentration en calcium égale à 0,042 mol/L et de dihydrogénophosphate d'ammonium ($NH_4H_2PO_4$) de concentration égale à 0,025 mol/L. Le pH stabilisé de la solution électrolytique est voisin de 4,5.

Cette solution a ensuite été chauffée à 60 °C. Cette température a été choisie dans le but d'obtenir principalement des phases apatitiques. Il faut également préciser que la température maximale d'utilisation de l'électrode au calomel saturé (ECS) est de 60 °C. L'électrolyte ainsi chauffé est maintenu sous une agitation magnétique constante fixée à 250 rpm afin de permettre une homogénéisation de la solution en termes de composition et de température pendant l'électrodéposition. Enfin, le choix de travailler en imposant un potentiel constant a été fait pour cette étude car la stabilisation d'une tension est plus simple que celle d'un courant et les générateurs sont donc simples et moins couteux. Cela permet alors de rendre le procédé plus facilement industrialisable. Celui-ci a donc été fixé pour ces essais à -1,6 V/ECS sur la base de précédents travaux réalisés au CIRIMAT. Dans ces conditions opératoires, le temps d'électrodéposition a été étudié et fixé à 30 secondes et à 1, 2, 5 et 10 minutes. Pour cela, les paramètres précédemment établis sont fixés et résumés dans la Figure IV-3 :

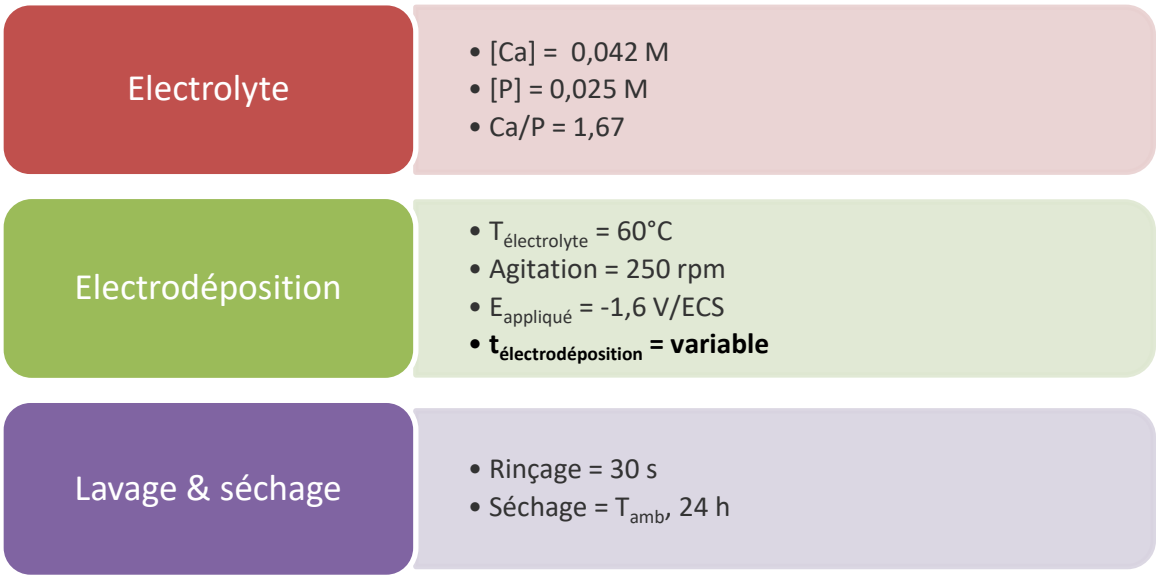


Figure IV-3 : Schéma résumant les conditions opératoires sélectionnées pour l'étude du temps d'électrodéposition

La Figure IV-4 représente les courbes chrono-ampérométriques enregistrées pour les différents temps d'électrodéposition. Il est possible d'observer que les courbes sont similaires en considérant les temps courts d'électrodéposition. En effet, l'intensité, en valeur absolue, diminue jusqu'à environ 10 secondes puis augmente avant de diminuer à nouveau (Figure IV-4a et b) et se stabiliser après 60 secondes (Figure IV-4c). Pour des temps plus longs, l'intensité augmente légèrement (Figure IV-4d) et se stabilise à nouveau (Figure IV-4e). Les diminutions d'intensité peuvent provenir de la formation du revêtement de CaP qui isole la surface de l'échantillon et empêche donc la circulation des électrons mis en jeu dans les réactions (cf. partie I-5-2-b). Les augmentations d'intensité, quant à elles, peuvent provenir des pores qui pourraient être présents dans de tels revêtements. A noter qu'une stabilisation du système est nécessaire pouvant expliquer ces oscillations.

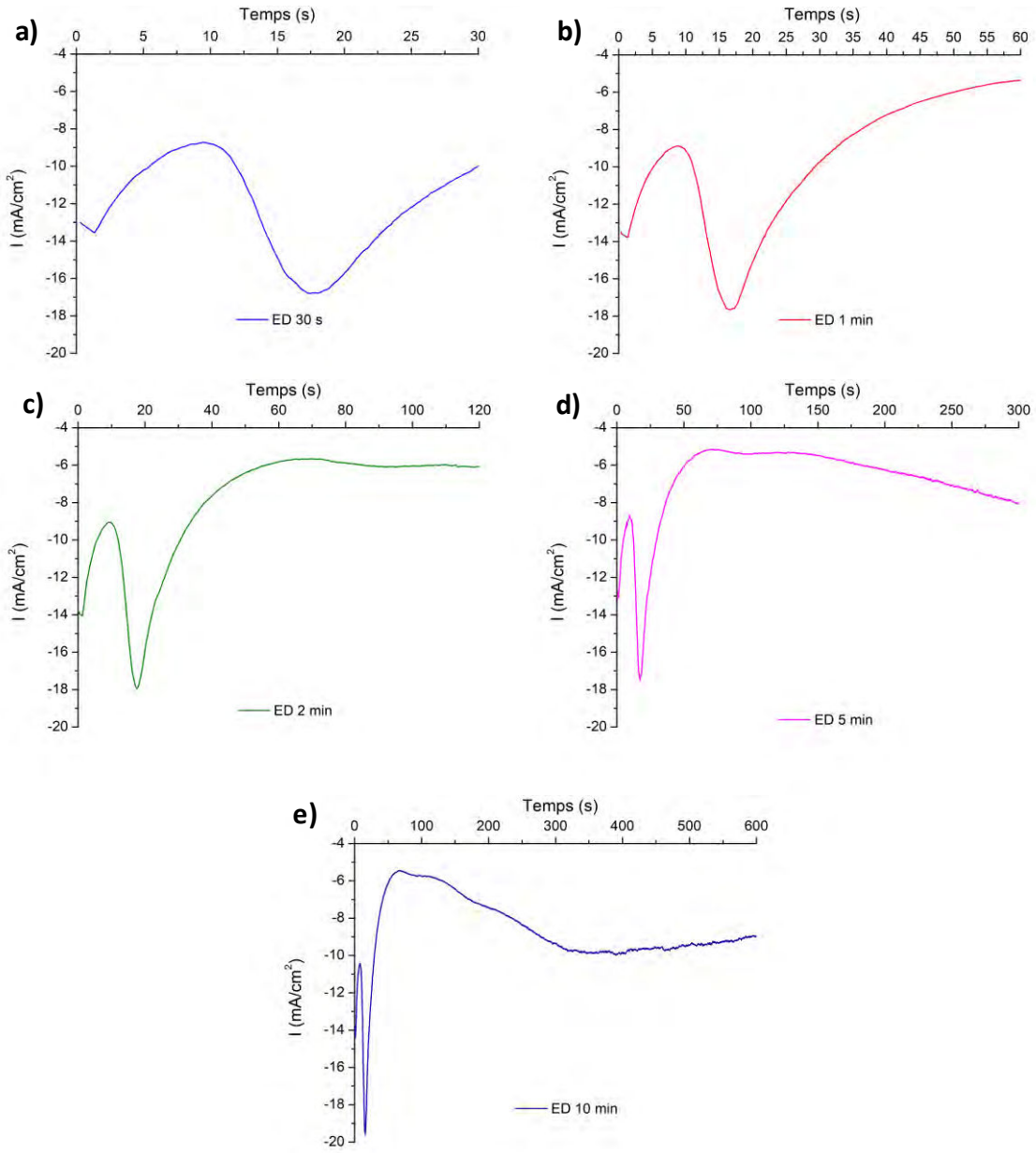


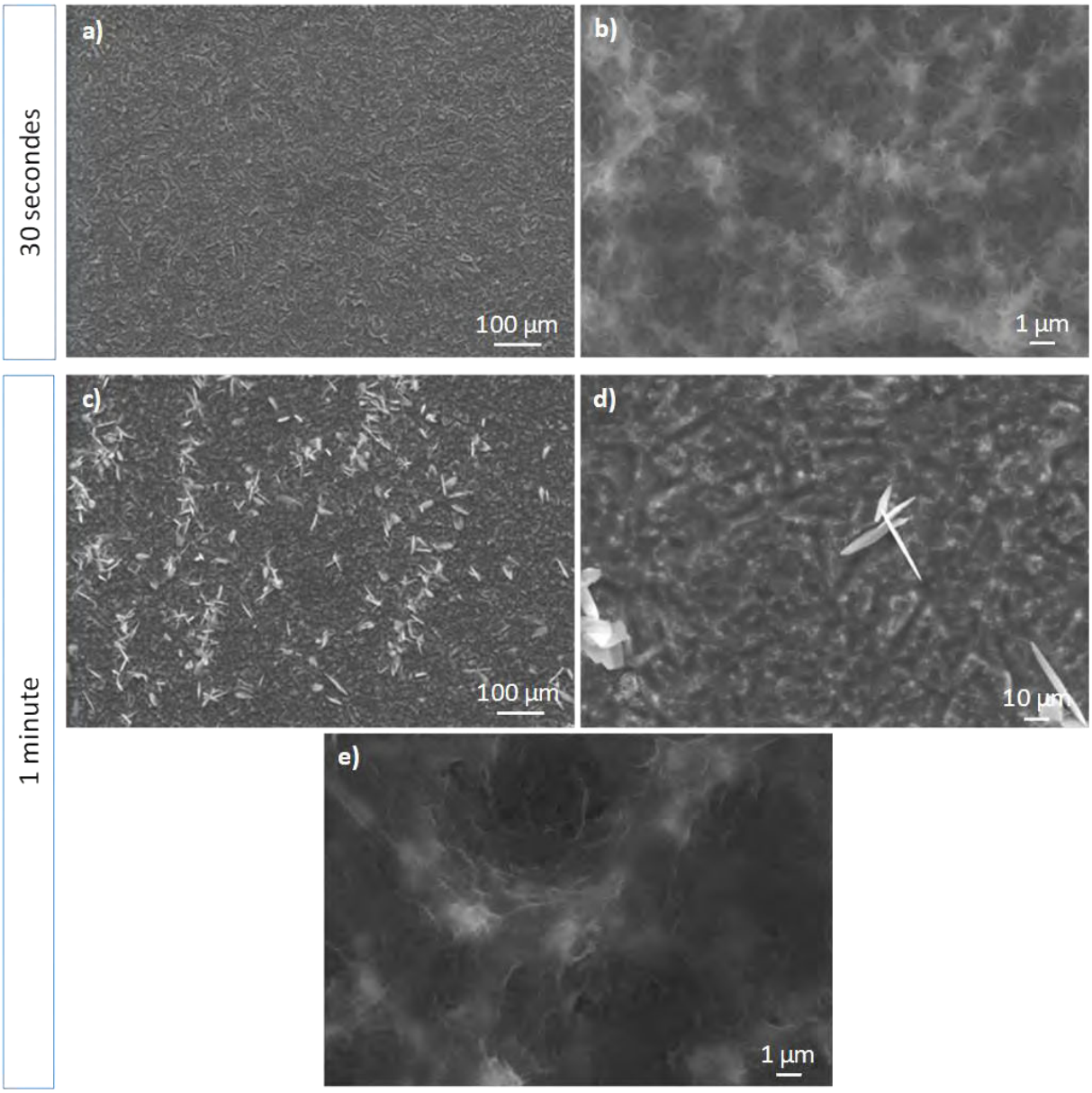
Figure IV-4 : Courbes chrono-ampérométriques enregistrées pour un temps d'électrodéposition de : a) 30 s; b) 1 min; c) 2 min; d) 5 min et e) 10 min

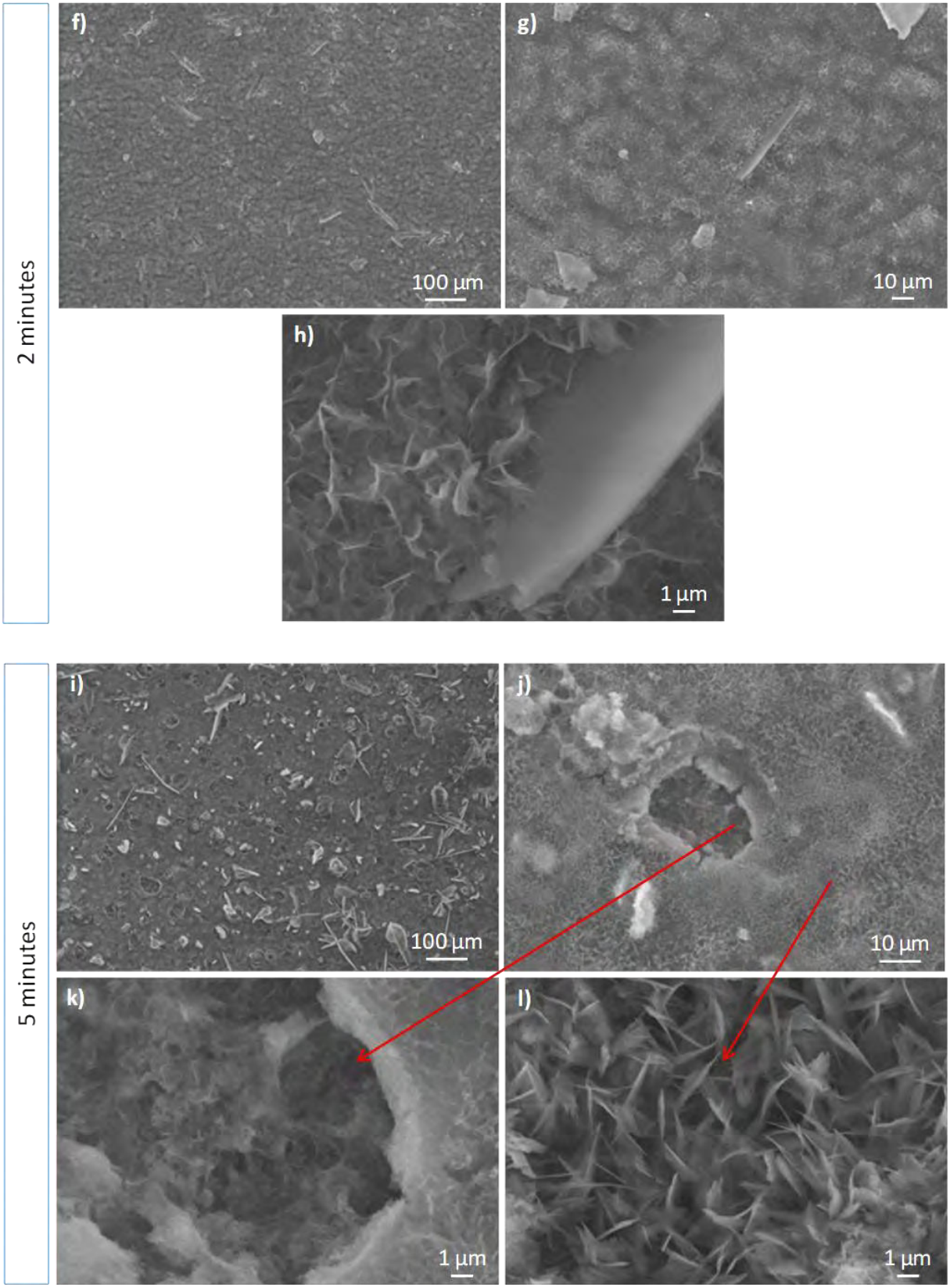
Il est alors possible d'observer sur la Figure IV-5 que plus le temps d'électrodéposition est long, plus l'échantillon est blanc. Ceci pourrait être expliqué par un revêtement de plus en plus épais. Cependant, l'échantillon après électrodéposition de 5 minutes laisse apparaitre des parties plus foncés de même couleur que le substrat en titane. Par ailleurs, le revêtement obtenu après 10 minutes d'électrodéposition présente un aspect granuleux.

Figure IV-5 : Cales revêtues suivant des temps d'électrodéposition différents. De gauche à droite : 30 secondes, 1 minute, 2 minutes, 5 minutes et 10 minutes

Les surfaces des dépôts ont ensuite été observées au MEB. Un tapis d'aiguilles nanométriques semblant suivre la rugosité du substrat et le couvrant entièrement est visible dès 30 secondes d'électrodéposition (Figure IV-6a et b). Après 1 minute, le tapis est toujours présent (Figure IV-6e) et des plaquettes fines d'environ 10 à 20 µm de côté apparaissent (Figure IV-6d) et sont réparties sur toute la surface de l'échantillon (Figure IV-6c). Au bout de 2 minutes, les aiguilles composant le tapis semblent avoir une taille plus importante (Figure IV-6h) alors que les plaquettes préalablement observées sont toujours présentes mais en plus faible quantité et de taille plus grande (~50-100 µm) (Figure IV-6f et g). A partir de 5 minutes d'électrodéposition des cratères sont visibles (Figure IV-6i et j), vraisemblablement provoqués par les bulles de dihydrogène produites lors de la réduction de l'eau à la surface de l'échantillon. Différentes morphologies composent alors le revêtement : des aiguilles nanométriques semblables à celles observées pour un temps d'électrodéposition court (Figure IV-6k), des aiguilles de tailles micrométriques (Figure IV-6l) ainsi que des plaquettes. Les mêmes observations peuvent être faites pour le revêtement obtenu après 10 minutes d'électrodéposition à savoir la présence de cratères menant à une surface inhomogène (Figure IV-6m) et des morphologies variées (Figure IV-6n). Il faut remarquer que les aiguilles micrométriques semblent encore avoir changé par rapport à celles observées après un temps d'électrodéposition de 5 minutes. Celles-ci semblent en effet plus fines et plus longues (Figure IV-6o).

Ces différentes morphologies observées pourraient correspondre à différentes phases de phosphate de calcium.




2 minutes
f)
100 µm
g)
10 µm
h)
1 µm
5 minutes
i)
100 µm
j)
10 µm
k)
1 µm
l)
1 µm

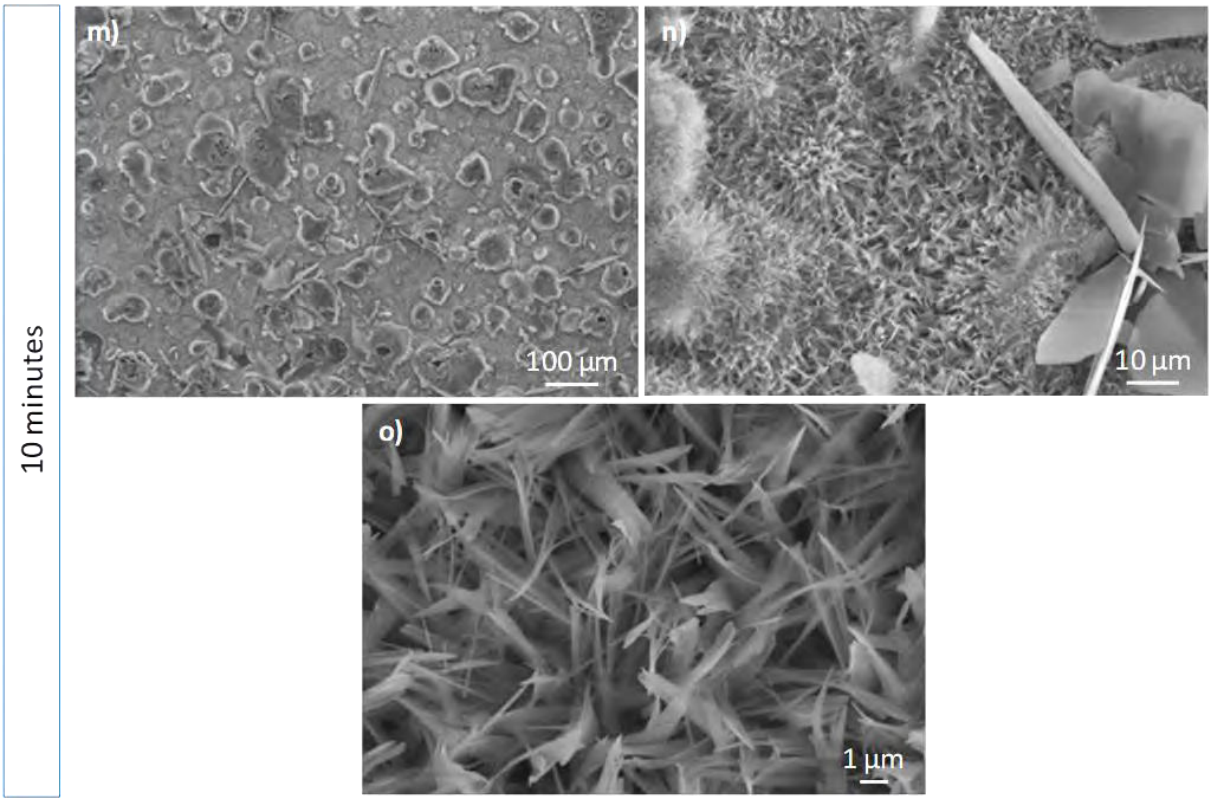


Figure IV-6 : Micrographies MEB de revêtements obtenus par électrodéposition après : a) et b) 30 secondes; c), d) et e) 1 minute; f), g) et h) 2 minutes; i), j), k) et l) 5 minutes; e) et m), n) et o) 10 minutes

Le temps d'électrodéposition a donc un effet important sur la morphologie du revêtement formé. Les aiguilles observées pour un temps d'électrodéposition court semblent croitre avec le temps. Ceci expliquerait les 2 morphologies d'aiguille observées pour les temps d'électrodéposition de 5 et 10 minutes. Les cratères sont créés par les bulles de dihydrogène qui engendrent le détachement du revêtement du substrat. Celui-ci est de nouveau formé mais avec un temps d'électrodéposition plus court d'où la formation d'aiguilles nanométriques et non micrométriques. *A contrario*, pour certaines zones le revêtement n'est jamais détaché et les aiguilles ont le temps de croitre. Afin de vérifier cette hypothèse, une coupe transversale de l'échantillon revêtu pendant 10 minutes a été observée au MEB. Il est possible d'observer sur la Figure IV-7 que ce ne sont pas les aiguilles nanométriques observées pour des temps courts qui grandissent mais une superposition de couches de morphologies différentes. La première couche, la plus proche du substrat, est composée d'un tapis d'aiguilles nanométriques orientées aléatoirement comme celui observé pour des temps d'électrodéposition courts. La deuxième couche est, elle, composée d'aiguilles allongées perpendiculairement à la surface du substrat comme celles observées pour des temps d'électrodéposition longs. Cela traduit une croissance unidimensionnelle du revêtement. Les plaquettes ne sont pas observables sur ces images mais sont néanmoins présentes au sein du revêtement comme le montre la Figure IV-6n précédente.

Ce mode de croissance du revêtement est en accord avec celui présenté par *Mokabber et al.* décrivant une croissance des cristaux de CaP dépendante du temps [111]. D'après eux, lors de la première étape (t = 1min), le revêtement est composé de feuillets nanométriques hautement ramifiés orientés aléatoirement. A la deuxième étape (t = 3min), la croissance s'effectue selon les axes b et c et des plaquettes de taille micrométriques sont formées. La troisième étape décrite pour des temps supérieurs à 10 minutes dans leur étude montre que le revêtement se forme selon l'axe c pour former des monocristaux sous forme d'aiguilles. Une représentation schématique de l'évolution de la morphologie des cristaux de CaP en fonction du temps d'électrodéposition est proposée par ces auteurs et représentée sur la Figure IV-8. Même si les auteurs utilisent une technique d'électrodéposition par courant pulsé et travaillent à -1,4 V et en présence d'H_2O_2, le mode de croissance de nos revêtements lors de l'application d'un potentiel constant de -1,6 V/ECS est similaire même si les temps sont quelque peu différents. En effet, à partir de 1 minute d'électrodéposition des plaquettes sont d'ores et déjà présentes dans notre étude. De plus, les aiguilles commencent à être visibles pour des temps de 5 minutes.

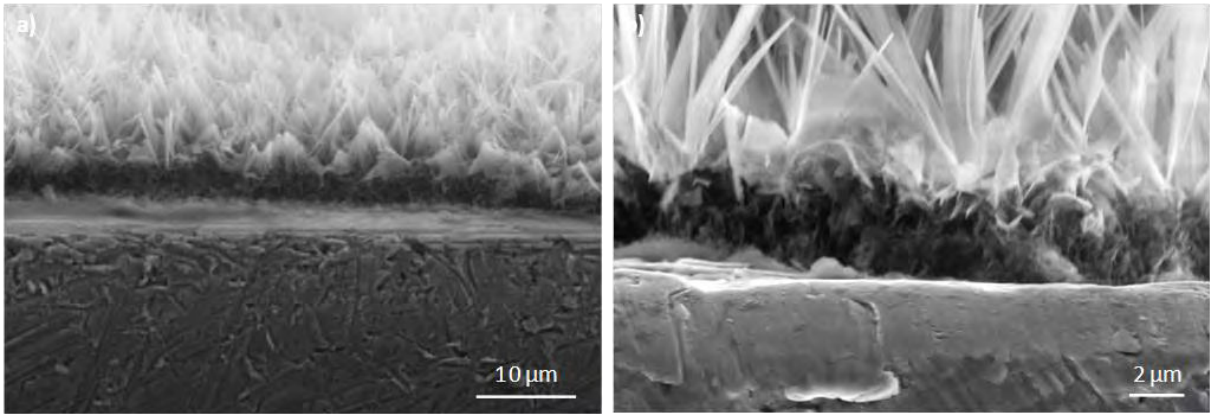


Figure IV-7 : Micrographies MEB à deux grossissements différents d'une coupe transversale d'un échantillon revêtu pendant 10 minutes

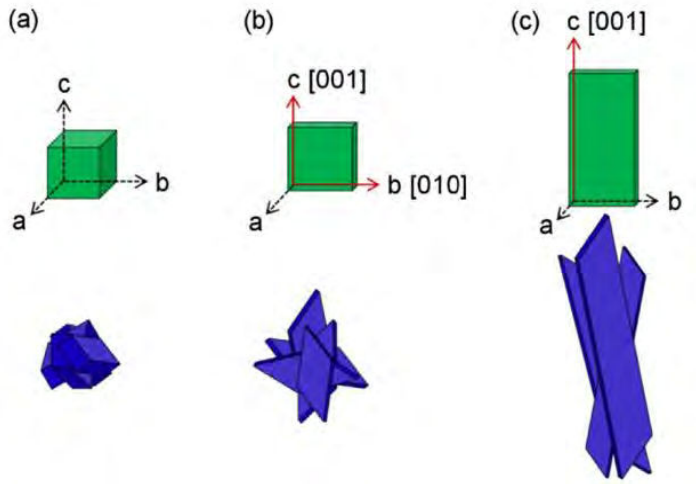


Figure IV-8 : Schéma représentant l'évolution de la morphologie des cristaux de CaP formés au cours du temps d'électrodéposition. Pour notre étude : a) à 30 secondes, b) à partir de 1 minute, c) à partir de 5 minutes [111]

La raison de ces morphologies diverses observées semblent dépendre de la germination des cristaux formés. En effet, la formation de CaP sur une surface métallique résulte d'un mécanisme de germination, pouvant être considérée comme hétérogène, puis de la croissance cristalline des germes. Dans le cas de l'électrodéposition et comme expliqué dans la partie I-5-2-b, c'est l'application du potentiel qui permet la création des ions OH^- à l'extrême surface de la cathode (échantillon) et donc l'élévation du pH menant à la formation d'un germe de CaP sur la surface métallique puis à sa croissance cristalline lorsqu'il a atteint une taille critique et à former ensuite une phase de CaP. Dans le modèle de germination classique, l'enthalpie libre d'excès de Gibbs amenant une solution sursaturée à un état d'équilibre est l'un des facteurs essentiels qui influence la formation des cristaux [113]. Quand le germe se forme, il doit passer la barrière d'énergie libre appelée barrière de germination ou enthalpie libre (ΔG) associée à la formation d'un germe de taille critique. En accord avec les théories de germination classique, la vitesse de germination J, correspondant au nombre de germes formés par unité de volume et de temps, est donnée par [111], [183], [184] :

$$J = K \exp\left[-\frac{\Delta G}{kT}\right] \quad \text{(IV.1)}$$

Avec, dans le cas d'une germination hétérogène :

$$\Delta G = \frac{16\pi\gamma^3\nu^2}{3[kT\ln(S)]^2} f(\theta) \quad \text{(IV.2)}$$

Où K est une constante cinétique, ν est le volume moléculaire des CaP (dépend de la structure cristallographique du CaP), γ est la tension interfaciale entre les cristaux de CaP et la solution, k est la constante de Boltzmann, T est la température, S est la sursaturation, et f(θ) est le facteur d'efficacité de mouillage d'un germe sur le substrat. Cependant, il a été reporté que les tensions interfaciales (γ), l'angle de contact (f(θ)) et les variations de volume moléculaire (ν) n'ont pas d'influence notable sur la vitesse de germination d'après *Lu et Leng* [184]. En se reportant à la formule et en considérant une température fixée, le degré de sursaturation est donc le paramètre influençant le plus la vitesse de germination ainsi que l'évolution morphologique des cristaux de CaP formés durant le processus de germination/croissance cristalline.

La sursaturation dépend principalement de la température, du pH et de la concentration en ions présents. Dans notre cas, la température est fixée et un gradient de concentration peut exister à cause de la consommation des ions lors de la formation des cristaux de CaP en surface du substrat en

titane mais reste difficilement quantifiable. Le pH, quant à lui, peut être considéré comme le principal acteur de la sursaturation, et dépend des ions OH^- créés par les réactions électrochimiques et donc de la distance à la surface de l'échantillon ainsi que de leur consommation lors de la formation des germes/cristaux de CaP.

Durant la première étape de la formation du revêtement, l'électrolyte est hautement sursaturé et les germes se forment à la surface de l'échantillon. La barrière de germination diminue et la vitesse de germination augmente. A sursaturation élevée et donc lorsque la barrière de nucléation est plus faible, *Jian et Liu* établissent que la correspondance au niveau de la structure cristallographique du substrat et des germes nouvellement formés devient moins critique, résultant alors en une inadéquation importante entre ces deux structures [185]. C'est la raison pour laquelle les cristaux formés sont orientés de façon aléatoire et ramifiés. On observe alors une couche dense formée d'aiguilles orientées aléatoirement comme présentée sur la Figure IV-7 et pour des temps d'électrodéposition courts Figure IV-6b et e. Par la suite, une fois que les germes ont été créés et que les cristaux ont grandi, la précipitation est réalisée à une distance bien plus éloignée de la surface de l'échantillon. En accord avec la Figure I-17, la présence d'OH^- est largement diminuée ainsi que le pH menant alors à un degré de sursaturation bien moindre. A noter que la précipitation des cristaux de CaP contribue également à cette diminution du pH. D'après le modèle de *Jiang et Liu*, à sursaturation plus faible la barrière de germination est plus élevée et l'inadéquation structurale entre le cristal formé et le substrat empêche la germination de s'effectuer de manière aléatoire. Les cristaux formés présentent donc une orientation préférentielle et croient sous forme d'aiguilles le long de l'axe c (direction préférentielle de l'apatite) [111]. Les modes de croissance des cristaux observés dans notre étude, différents entre l'extrême surface de l'échantillon et à une distance plus éloignée de cette dernière, peut donc s'expliquer par le degré de sursaturation de l'électrolyte à proximité de la cathode c'est-à-dire du substrat/implant [113].

La prochaine étape a été de voir s'il était possible d'établir une relation entre les différentes morphologies observées (aiguilles nanométriques, plaquettes micrométriques et aiguilles micrométriques) et les différentes phases de CaP potentiellement présentes. Dans ce but, la DRX ainsi que les spectroscopies FTIR et Raman ont été mises en œuvre pour identifier les phases de CaP présentes dans les revêtements élaborés par électrodéposition.

Les diffractogrammes RX, enregistrés en mode rasant (1 °), des revêtements obtenus après 30 secondes, 1, 2, 5 et 10 minutes d'électrodéposition sont présentés sur la Figure IV-9a.

Tous les diffractogrammes RX comportent des pics à 35, 38,5, 40, 53, 63, 71,5 et 72,5 ° correspondant au titane ainsi qu'à 41 et 59,5 ° identifiés comme du TiH_2 tel que précédemment discuté dans le Chapitre II.

Les revêtements obtenus après 1, 2, 5 et 10 minutes d'électrodéposition présentent tous un pic intense à 11,5 ° indiquant ainsi la présence de DCPD. Cela est confirmé par les pics présents à 21, 29, 30,5, 34, 36 et 45 ° en accord avec la fiche JCPD 09-0077 du composé de référence DCPD. De plus, un pic large apparait à partir de 2 minutes d'électrodéposition entre 31 et 33 ° (Figure IV-9b) indiquant la présence de ns-HAP ou d'OCP d'après les fiches JCPD 00-046-0905 et 00-026-1056 respectivement. Ceci peut être confirmé sur le diffractogramme RX de l'échantillon revêtu pendant 10 min par les pics à 26 °, des pics de faible intensité entre 47 et 50 ° ainsi que des épaulements à 54 ° et 73 ° à côté des pics du titane. Il est en effet difficile de distinguer ces deux phases car beaucoup de leurs pics caractéristiques sont communs ou très proches. Un seul pic attribuable à l'OCP à 4,5 ° permettrait de distinguer ces deux phases ; il peut être observé sur les diffractogrammes RX des revêtements obtenus après 5 et 10 minutes d'électrodéposition. Il faut néanmoins noter qu'un fond continu important est présent aux bas angles (corrigé sur la Figure IV-9a) et ce pic pourrait donc être un artefact. De plus, les diffractogrammes RX obtenus sont peu résolus, certainement lié à une faible cristallinité du revêtement. Il est possible de noter que l'intensité des pics correspondant aux CaP augmente avec la durée de l'électrodéposition au détriment des pics du substrat laissant ainsi penser que l'épaisseur du revêtement augmente avec la durée d'électrodéposition.

Enfin, aucun pic correspondant au phosphate de calcium ne peut être observé sur le diffractogramme RX correspondant à l'échantillon revêtu pendant 30 secondes d'électrodéposition ce qui ne nous permet pas de conclure sur les phases présentes dans celui-ci. Cela est certainement dû à la très faible épaisseur du revêtement pour un temps court d'électrodéposition. De plus, la rugosité de surface complique la caractérisation du revêtement fin comme souligné dans le Chapitre III. Il est alors possible de dire que, tous les revêtements hormis celui revêtu pour un temps de 30 secondes, sont composés de DCPD ainsi que d'OCP et/ou de ns-HAP.

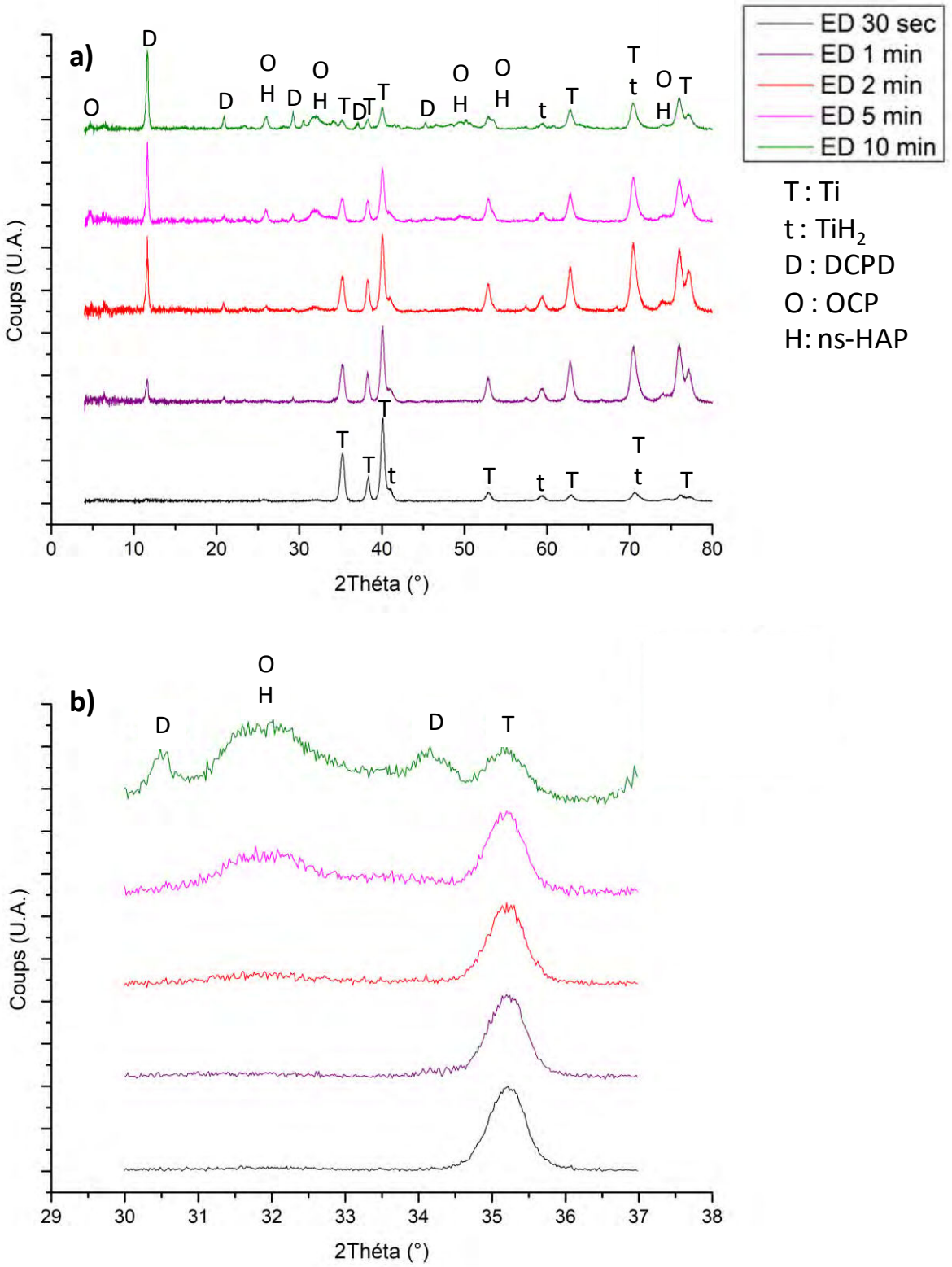


Figure IV-9 : Diffractogrammes RX des échantillons revêtus après 30 secondes et 1, 2, 5 et 10 minutes d'électrodéposition présentés selon deux domaines d'angles de diffraction différents

Afin de poursuivre l'étude des revêtements, la spectroscopie FTIR a été utilisée en mode ATR. Seuls les spectres correspondant aux échantillons obtenus après 1 et 10 minutes d'électrodéposition ainsi que les spectres des CaP de référence à savoir l'OCP, le DCPD et la ns-HAP sont présentés sur la Figure IV-10.

Pour le revêtement électrodéposé pendant 10 minutes, il est possible d'observer une multitude de bandes. Dans un premier temps, on note la présence des bandes à 1203, 1120, 1053, 1002, 985, 871, 783, 654, 574 et 521 cm^{-1} correspondant aux modes de vibration ν_3, ν_1 et ν_4 des PO_4 du DCPD ainsi qu'à la liaison P-OH des HPO_4^{2-} et des modes de vibration de l'eau de ce composé. Elles sont identifiées par la ligne en pointillés noirs sur la Figure IV-10b. La présence de DCPD peut également être confirmée par les pics à 1647, 3155, 3266, 3473 et 3534 cm^{-1} sur la Figure IV-10a correspondant à l'eau de celle-ci. Des pics additionnels à 1037, 1020, 600 et 558 cm^{-1} identifiés par des lignes en tirets bleus sur la Figure IV-10a correspondent aux modes de vibration ν_3 et ν_4 des PO_4 de l'OCP. Cependant les pics de l'OCP et de la ns-HAP étant encore une fois très proches, il est difficile de les différencier, notamment dans le cas de composés nanocristallins. La caractérisation par spectroscopie FTIR montre donc que ce revêtement obtenu après 10 minutes d'électrodéposition est composé de DCPD et d'une autre phase d'OCP et/ou de ns-HAP en accord avec les résultats obtenus par DRX.

Pour le revêtement obtenu après 1 minute d'électrodéposition, l'analyse est plus complexe car le spectre est moins résolu, comme si celui-ci avait été lissé. La forme générale du spectre est très proche de celui de la ns-HAP. En effet, la bande à 1020 cm^{-1} correspond au mode de vibration ν_3 des PO_4 de la ns-HAP et celles à 600 et 558 cm^{-1} à la ν_4 des PO_4 (lignes en tirets bleus sur la Figure IV-10b). Ces bandes sont néanmoins identiques pour l'OCP. La mauvaise résolution des bandes sur le spectre pourrait s'expliquer soit par un revêtement moins bien cristallisé ce qui conduirait à un élargissement des bandes soit par l'épaisseur du revêtement, supposée très faible après 1 min d'électrodéposition, et associée à une rugosité significative du substrat de titane rendant ainsi difficile le contact direct et continu entre le cristal diamant de l'accessoire ATR du spectromètre et le revêtement. Pour ce revêtement, la présence de DCPD semble à écarter, en opposition avec le résultat DRX précédent, et la discrimination entre l'OCP et la ns-HAP est difficile et ne nous permet pas de conclure.

Cette analyse nous permet donc de confirmer que l'OCP et/ou la ns-HAP semble composer une partie du revêtement pour des temps d'électrodéposition de 1 et 10 minutes alors que la présence de DCPD a été mise en évidence uniquement pour un temps de 10 minutes. Cependant, même si plusieurs acquisitions ont été réalisées car cette technique ATR est rapide, elle reste néanmoins locale et ne nous permet pas d'analyser l'ensemble de la zone déposée.

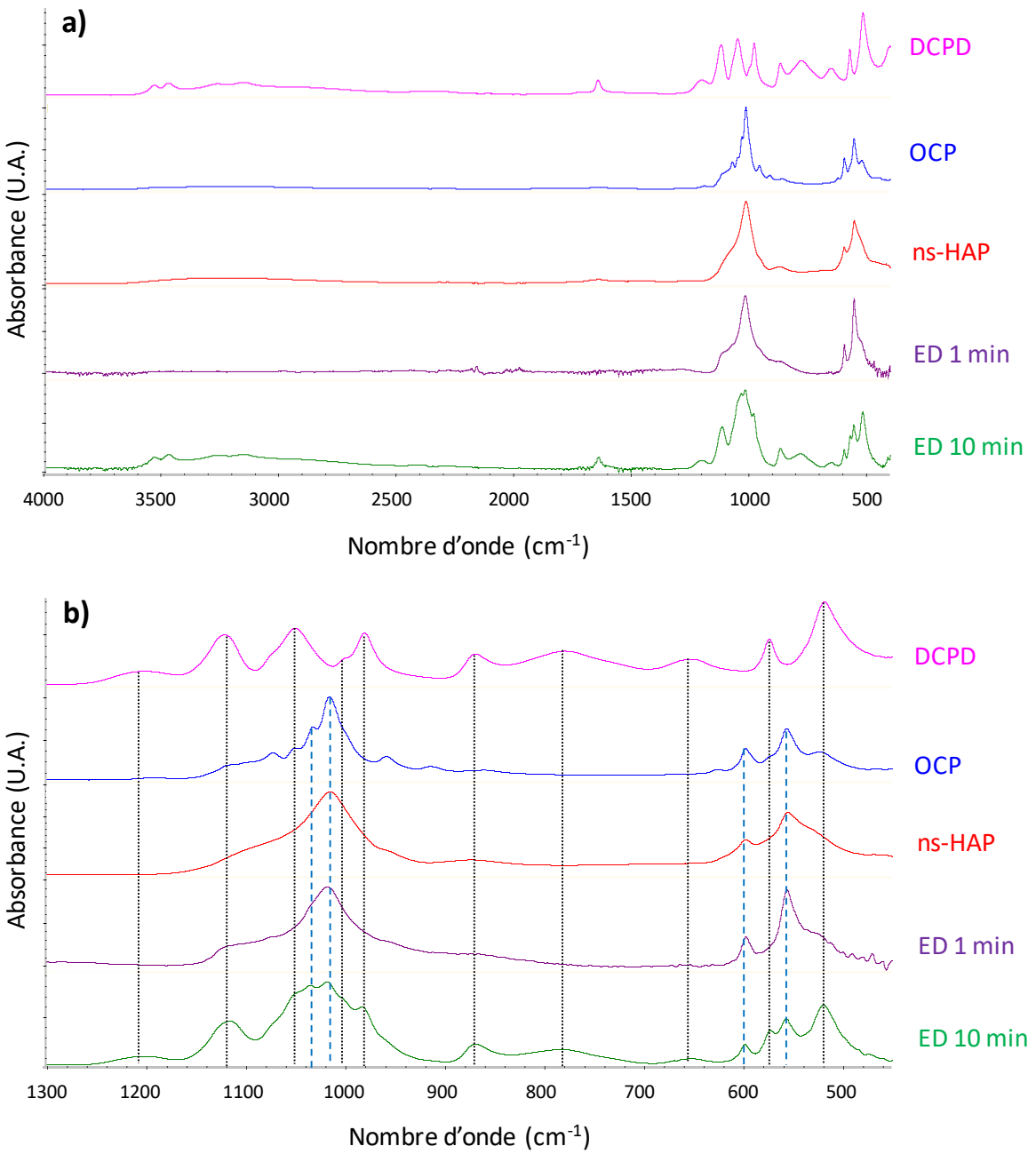


Figure IV-10 : Spectres FTIR-ATR des phosphates de calcium de référence (DCPD, OCP et ns-HAP) et des échantillons revêtus pendant 1 et 10 minutes d'électrodéposition : a) domaine spectral complet (4000-400 cm^{-1}) et b) domaine spectral de 1300 à 450 cm^{-1}

L'utilisation de la microspectroscopie Raman qui possède une meilleure résolution spatiale que le FTIR-ATR et qui est, elle, couplée avec un microscope confocal et permet donc une focalisation sur les zones d'intérêt. En effet, il nous a été possible de réaliser une analyse Raman locale sur les différentes morphologies précédemment observées au MEB. Il faut noter que tous les spectres présentés par la suite ont été normalisés.

Le revêtement électrodéposé durant 1 minute a, dans un premier temps, été analysé. Le spectre réalisé sur le tapis composé d'aiguilles nanométriques (Figure IV-6e) permet l'observation d'un pic intense à 959 cm^{-1} (Figure IV-11b). Celui-ci pourrait correspondre au mode de vibration v_1 des PO_4 de la ns–HAP présent à 961 cm^{-1} sur le spectre du composé de référence. Cependant, ce pic étant large et dissymétrique vers les hauts nombres d'onde, il pourrait également être attribué à de l'OCP mal cristallisé dont les 2 bandes à 959 et 966 cm^{-1} élargies auraient conduit à une seule bande. Les bandes présentes à 428, 447, 587 et 610 cm^{-1} (Figure IV-11a) peuvent être attribuées aux modes de vibration v_2 et v_4 des PO_4 de la ns-HAP et/ou de l'OCP. En effet, celles-ci sont mal définies et les bandes associées à ces modes de vibration des composés de référence OCP et ns-HAP sont proches. Il est donc difficile de conclure. Il est néanmoins possible d'observer que le pic caractéristique de l'élongation des OH de l'apatite à 3571 cm^{-1} n'est pas présent sur le spectre réalisé sur l'échantillon. Cela nous laisse donc penser que le tapis est composé d'OCP mal cristallisé. Il faut noter que le même spectre a été obtenu pour le revêtement électrodéposé pendant 30 secondes.

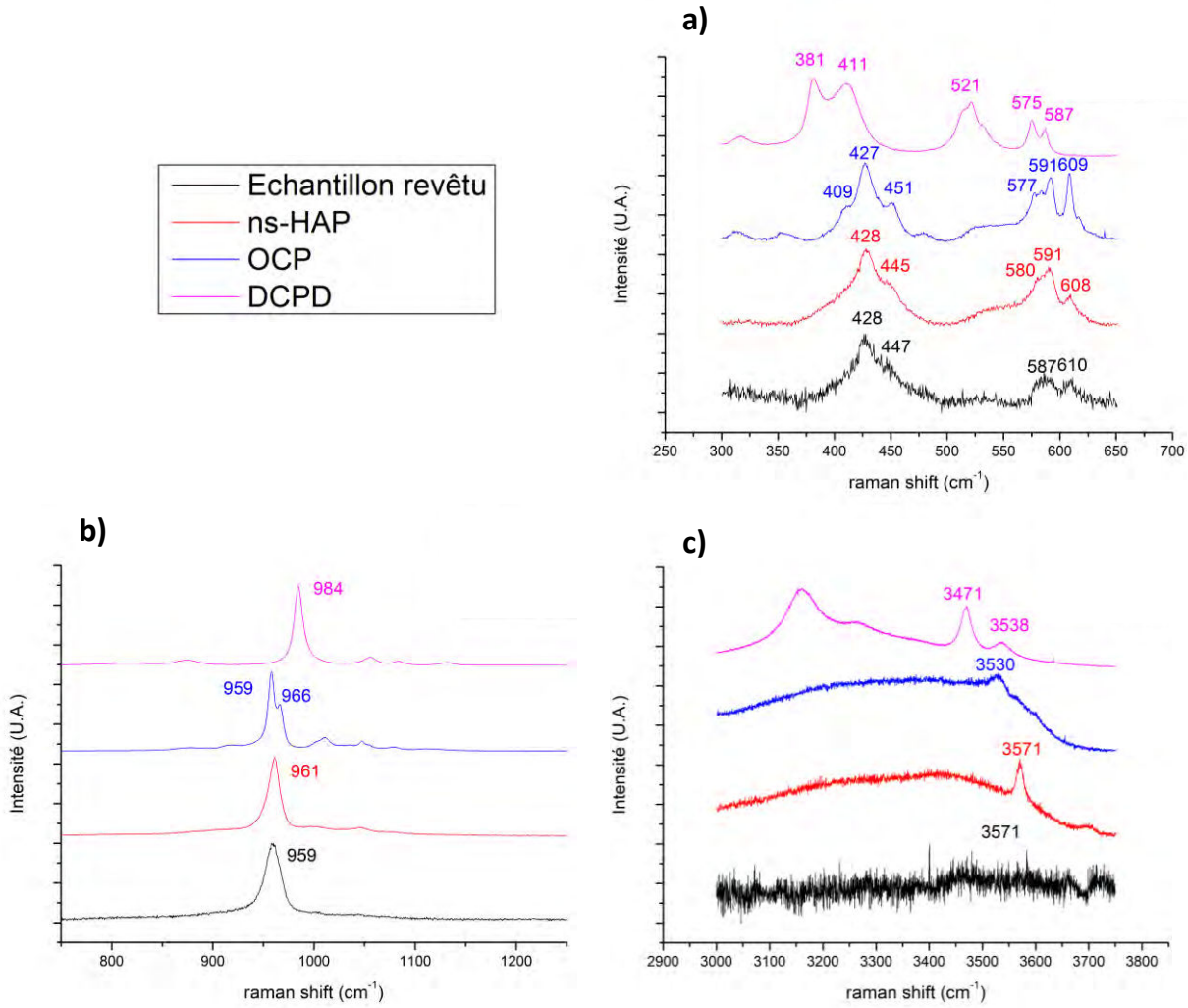


Figure IV-11 : Spectres Raman (normalisés) des phosphates de calcium de référence (ns-HAP, DCPD et OCP) et du tapis de aiguilles nanométriques observé pour un temps d'électrodéposition de 1 min : a) domaine spectral de 300 à 650 cm^{-1} ; b) domaine spectral de 750 à 1250 cm^{-1} et c) domaine spectral de 3000 à 3750 cm^{-1}

Le spectre réalisé sur les plaquettes micrométriques observées sur ce revêtement (Figure IV-6d) présente un pic intense à 984 cm^{-1} caractéristique du mode de vibration ν_1 des PO_4 du DCPD (Figure IV-12b). Cela est confirmé par la présence du pic à 876 cm^{-1} correspondant aux liaisons P-OH des HPO_4^{2-} du DCPD et à celui à 1056 cm^{-1} attribuable à la ν_3 des PO_4 de cette même phase (Figure IV-12b). Aussi nous pouvons noter les bandes à 382, 413 et à 522, 577 et 587 cm^{-1} (Figure IV-12a) correspondant respectivement aux modes de vibration ν_2 et ν_4 des PO_4 du DCPD. Les pics à 3471 et 3538 cm^{-1} relatives aux liaisons O-H de l'eau de structure du DCPD sont également visibles (Figure IV-12c). Il faut noter que la bande à 960 cm^{-1} (Figure IV-12a) provient du tapis d'aiguilles nanométriques d'OCP discuté précédemment, qui est situé sous les cristaux de DCPD. Le DCPD n'apparaissait pas lors l'analyse FTIR mais était bien visible en DRX. De plus, la morphologie plaquettaire de cette phase de CaP est assez caractéristique et donc l'ensemble des analyses par DRX et spectroscopie Raman confirme sa présence.

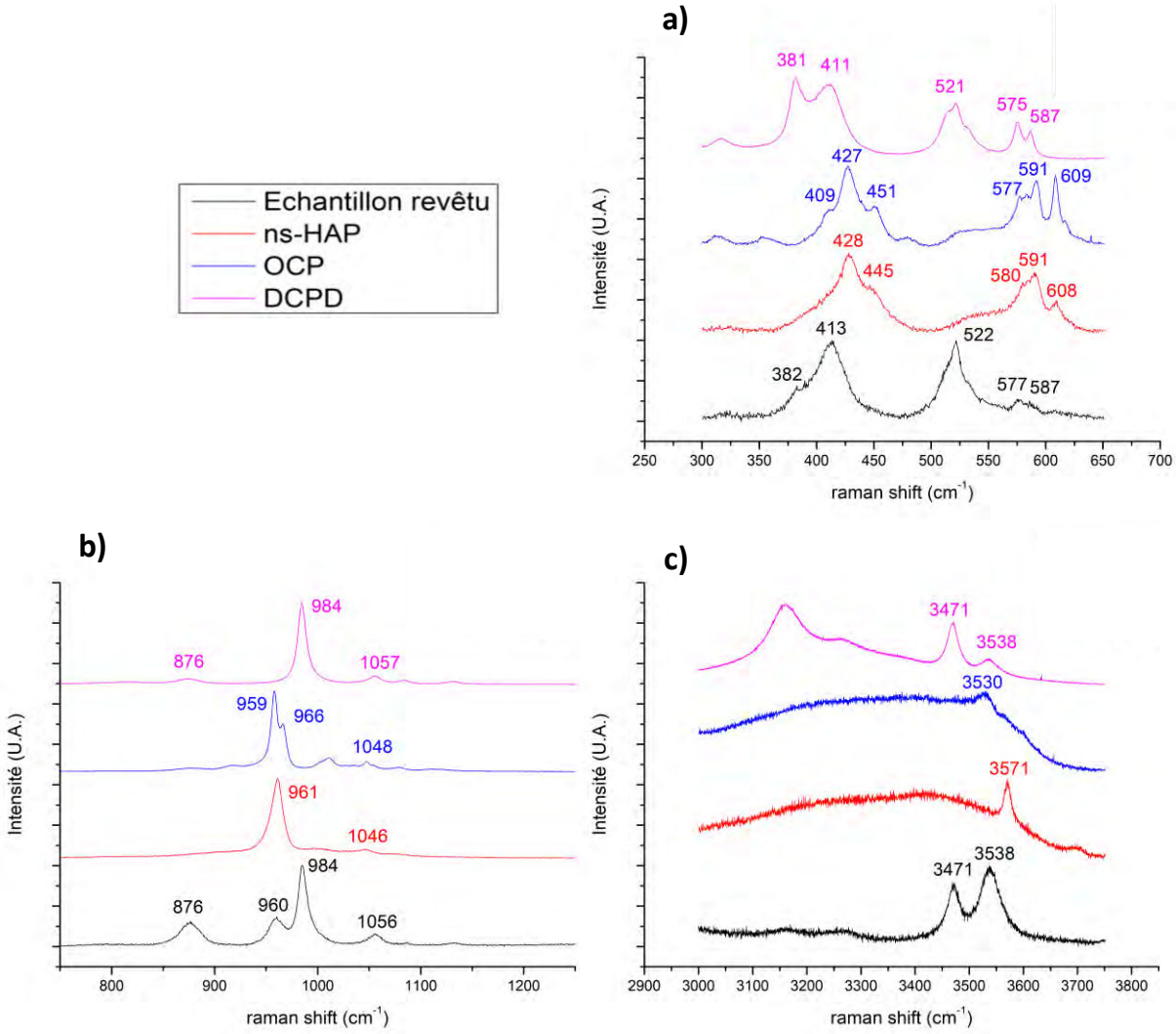


Figure IV-12 : Spectres Raman (normalisés) des phosphates de calcium de référence (ns-HAP, DCPD et OCP) et des plaquettes micrométriques observées pour un temps d'électrodéposition de 1 min : a) domaine spectral de 300 à 650 cm^{-1} ; b) domaine spectral de 750 à 1250 cm^{-1} et c) domaine spectral de 3000 à 3750 cm^{-1}

Différentes zones du revêtement obtenu après 10 minutes d'électrodéposition composés de cristaux de morphologies variables (Figure IV-6m) ont été analysées : 2 pointés sur les tapis d'aiguilles (point 1 et point 2 sur la Figure IV-13) et un sur une plaquette micrométrique (plaquette sur la Figure IV-13).

Le point 1 présente 2 pics intenses à 959 et 966 cm^{-1} ainsi qu'un pic de plus faible intensité à 1010 cm^{-1} (Figure IV-13b) attribuables respectivement aux modes de vibration ν_1 et ν_3 des PO_4 de l'OCP. Cette fois ci les 2 pics de la ν_1 sont bien distincts, pouvant être expliqué par une meilleure cristallisation de la phase. L'identification de cette phase est confirmée par la présence des pics à 411, 429, 450 cm^{-1} et à 578, 591 et 609 cm^{-1} (Figure IV-13a) correspondant aux modes ν_2 et ν_4 des PO_4 de l'OCP. L'absence de pic des OH de l'apatite à 3571 cm^{-1} valide aussi cette hypothèse (Figure IV-13c).

Le point 2, quant à lui, présente un pic à 961 cm^{-1} (Figure IV-13b) pouvant être associé au mode de vibration ν_1 de l'OCP ou de la ns-HAP. Cependant la présence du pic à 3571 cm^{-1} (Figure IV-13c) correspondant à l'élongation des OH de la ns-HAP nous permet de conclure que la phase associée à ce point est la ns-HAP.

Enfin, la plaquette présente un pic intense à 985 cm^{-1} (Figure IV-13b) permettant d'affirmer sans ambiguité que cette morphologie plaquettaire peut être attribuée au DCPD. On retrouve également les modes de vibration ν_2, ν_4 et des OH de l'eau du DCPD (Figure IV-13a et c).

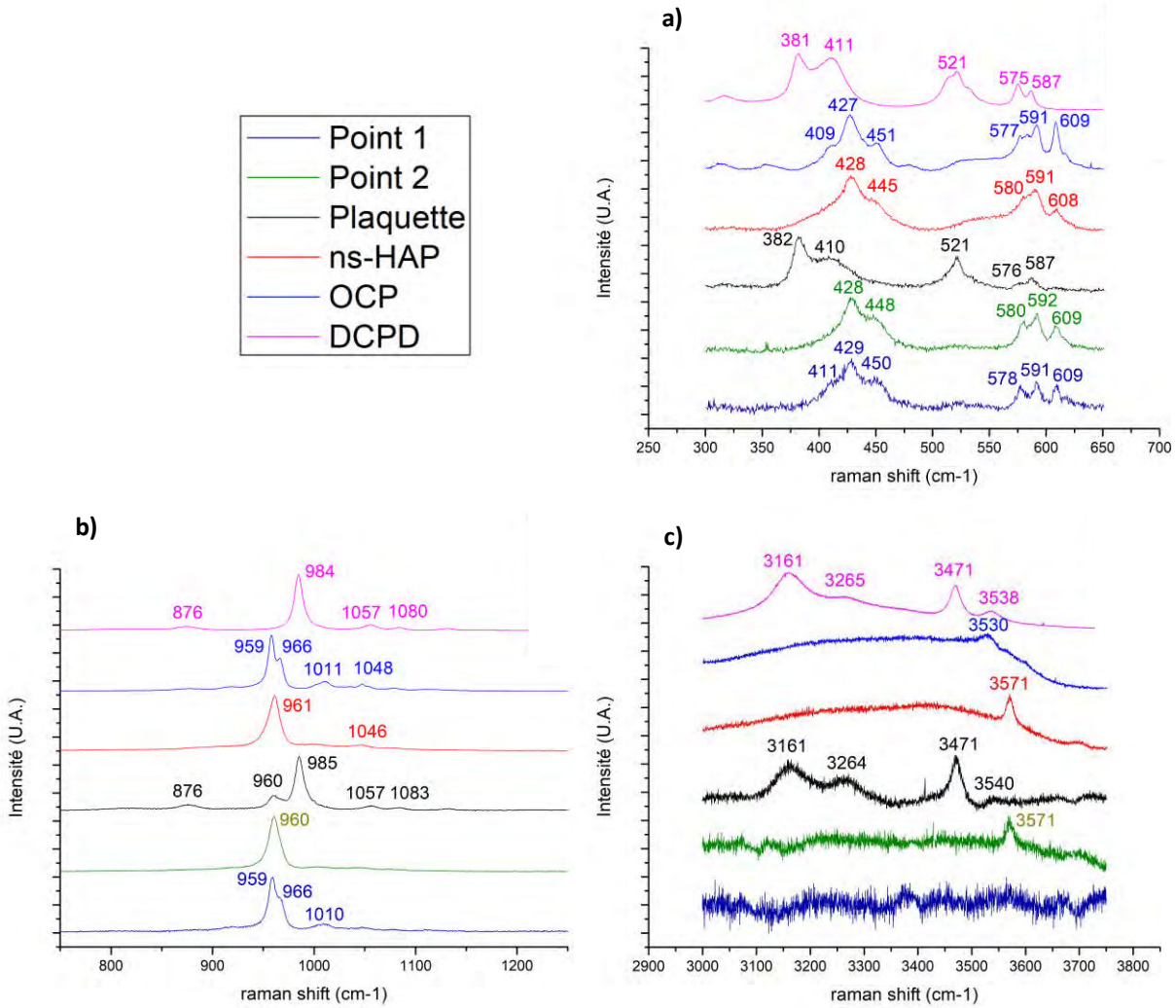


Figure IV-13 : Spectres Raman (normalisés) des phosphates de calcium de référence (ns-HAP, DCPD et OCP) et de trois différentes morphologies caractéristiques observées pour un temps d'électrodéposition de 10 min : a) domaine spectral de 300 à 650 cm^{-1} ; b) domaine spectral de 750 à 1250 cm^{-1} et c) domaine spectral de 3000 à 3750 cm^{-1}

Le revêtement formé avec un temps de 10 minutes d'électrodéposition est donc composé de 3 phases : le DCPD, l'OCP et la ns-HAP. Un profil Raman a alors été réalisé sur une coupe transversale de l'échantillon comme précédemment observé au MEB sur la Figure IV-7 ; dans le but de voir la répartition de ces phases sur l'épaisseur du revêtement. La Figure IV-14 présente les spectres Raman obtenus sur ce profil : 0 µm correspondant au revêtement le plus proche du titane et 24 µm le plus éloigné. Il est alors possible de voir que les 3 premiers spectres, réalisés proche du substrat comportent des bandes à 961 et 959 cm^{-1} et à 3570 cm^{-1} (Figure IV-14b et c) correspondent respectivement au mode de vibration v_1 des PO_4 et à l'élongation des OH de la ns-HAP. Les 3 spectres suivant, correspondant au revêtement le plus éloigné du titane, présentent les 2 pics à 959 et 967 cm^{-1} du mode de vibration v_1 des PO_4 de l'OCP ainsi que le pic entre 409 et 411 cm^{-1} (Figure IV-14a) associé au mode de vibration v_2 des PO_4 de l'OCP ; bande beaucoup moins intense pour la ns-HAP (épaulement). Il faut également noter l'absence de bande à 3570 cm^{-1} (Figure IV-14c). Il est donc

possible d'affirmer que les phases composant le revêtement sont réparties suivant la distance au substrat : la couche la plus proche est composée de ns-HAP alors que celle plus éloignée correspond à de l'OCP.

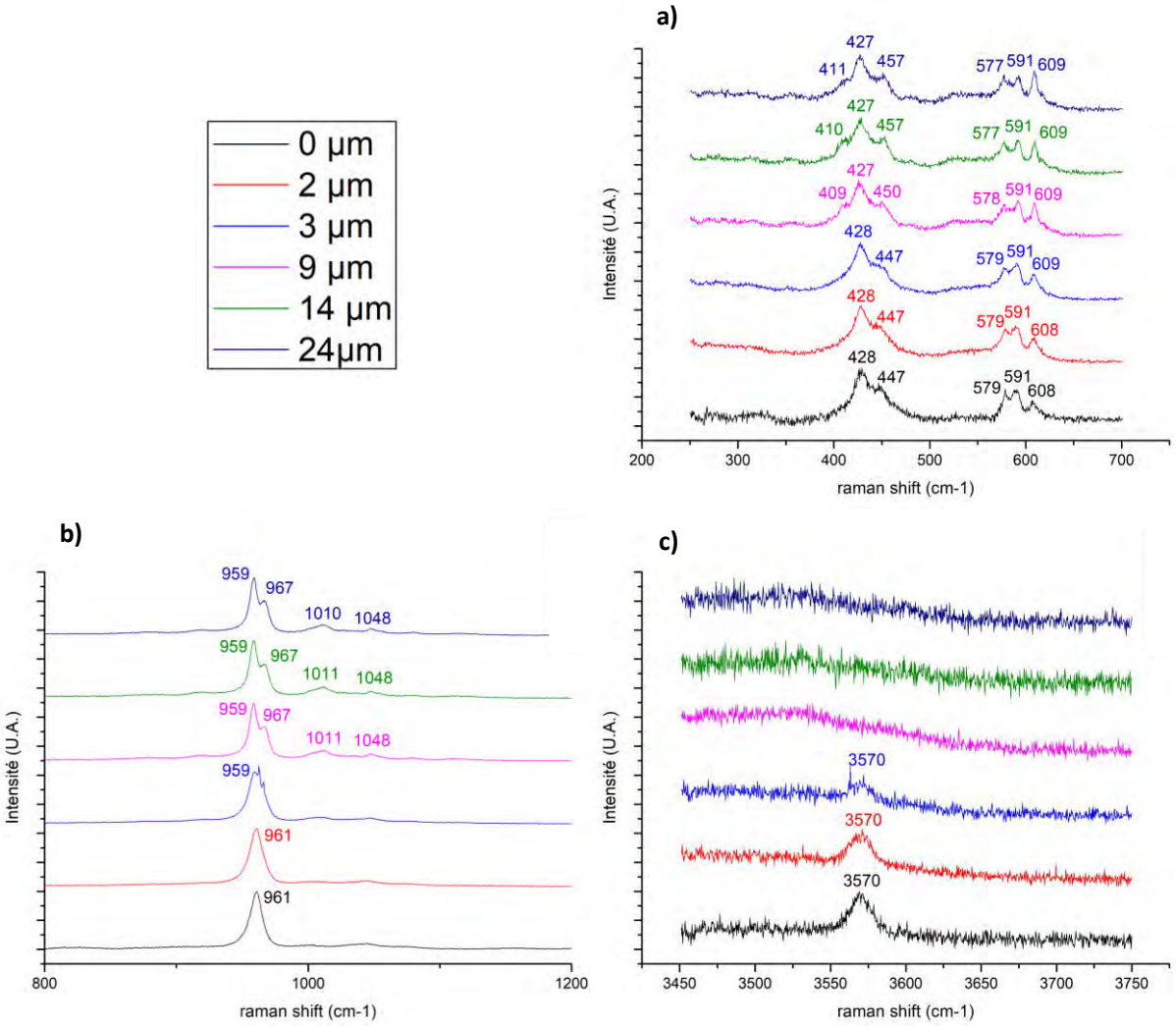


Figure IV-14 : Spectres Raman (normalisés) suivant le profil d'une coupe transversale pour un revêtement obtenu avec un temps d'électrodéposition de 10 min : a) domaine spectral de 250 à 700 cm^{-1} ; b) domaine spectral de 800 à 1200 cm^{-1} et c) domaine spectral de 3450 à 3750 cm^{-1}

En résumé, la caractérisation des revêtements électrodéposés est également difficile pour les mêmes raisons que présentées lors de la caractérisation des revêtements obtenus par immersions successives dans le Chapitre III. En effet, les revêtements semblent fins et mal cristallisés sur un substrat qui est rugueux. Néanmoins, les différentes techniques de caractérisation précédemment utilisées nous permettent de confirmer la présence de DCPD après 1 minute d'électrodéposition. De plus, cette phase correspond aux cristaux plaquettaires de taille micrométrique observés au MEB. Pour les temps faibles d'électrodéposition, à savoir 30 secondes et 1 minute, la caractérisation du tapis d'aiguilles a été difficile en raison des signaux faibles voire inexistants obtenus par DRX et spectroscopie FTIR. La spectroscopie Raman a néanmoins permis de montrer que ce tapis se

compose d'OCP mal cristallisé. Afin de confirmer cette hypothèse, le calcium ainsi que le phosphore constituant le revêtement ont été dosés par spectrométrie ICP et le rapport Ca/P obtenu est égal à 1,30 ± 0,01. Ce rapport étant très proche de celui de l'OCP (Ca/P = 1,33), nous pouvons dire que le revêtement d'aiguilles nanométriques observé pour des temps courts d'électrodéposition se compose d'OCP. Enfin, les revêtements formés avec des temps plus longs d'électrodéposition sont multiphasés et composés de DCPD, d'OCP et de ns-HAP. Il a également été démontré que ces phases sont réparties sous forme de couches dans le revêtement : la ns-HAP est formée proche du substrat alors que le revêtement le plus loin du substrat est composé d'OCP. A noter que cet OCP est bien cristallisé, en accord avec les observations MEB d'aiguilles micrométriques.

Pour rappeler les données du Chapitre I, les phases de phosphate de calcium pouvant précipiter lors de l'électrodéposition sont associées aux réactions suivantes :

- La brushite (DCPD) :

$$\mathrm{Ca^{2+} + HPO_4^{2-} + 2\,H_2O \rightarrow CaHPO_4, 2H_2}O \qquad \text{(IV.4)}$$

- Le phosphate octocalcique (OCP) :

$$\mathrm{8\,Ca^{2+} + 2\,HPO_4^{2-} + 4\,PO_4^{3-} + 5\,H_2O \rightarrow Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4, 5H_2O} \qquad \text{(IV.5)}$$

- L'apatite déficiente en calcium (ns-HAP) :

$$\mathrm{(10-x)\,Ca^{2+} + x\,HPO_4^{2-} + (6-x)PO_4^{3-} + (2-x)\,OH^-} \rightarrow \mathrm{Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}OH_{2-x}} \quad \text{avec } 0 < x < 2 \qquad \text{(IV.6)}$$

- L'hydroxyapatite (HAP) :

$$\mathrm{10\,Ca^{2+} + 6\,PO_4^{3-} + 2\,OH^- \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6OH_2} \qquad \text{(IV.7)}$$

La précipitation de ces phases est dépendante de la présence des ions $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} et PO_4^{3-} et donc du pH atteint localement en fonction des ions OH^- créés principalement par la réaction de réduction de l'eau à la surface de l'échantillon :

$$\mathrm{2\,H_2O + 2\,e^- \rightarrow H_2\uparrow + 2\,OH^-} \qquad \text{(IV.8)}$$

Le diagramme de spéciation de ces espèces est présenté sur la Figure I-18. Cependant, le pH local est très difficilement mesurable lors de l'électrodéposition. *Zhang et al.* proposent une technique de mesure locale et remonte au pH obtenu en fonction de la densité de courant imposé dans des conditions d'électrodéposition similaires aux nôtres ($[Ca(NO_3)_2]$ = 0,042 mol/L, $[NH_4H_2PO_4]$ = 0,025 mol/L), 60°C, $pH_{initial}$ = 4,5) [115]. Ils ont balayé une gamme de densité de courant allant de 1 à 5 mA/cm^{-2} et ont mesuré un pH compris entre 6 et 8. En faisant une moyenne des intensités

observées en fonction du temps durant nos expériences avec un potentiel imposé de - 1,6 V/ECS, nous atteignons une densité de courant comprise entre 7 et 12 mA/cm^{-2} menant alors à un pH supérieur ou égal à 8 d'après l'étude de *Zhang et al.*. Cela ne nous permet donc pas de conclure réellement sur le pH atteint localement même si ce dernier semble être supérieur à 8 impliquant alors la présence majoritaire d'ions HPO_4^{2-} d'après la Figure I-18 et donc une présence minoritaire d'ions $H_2PO_4^-$ ou PO_4^{3-}.

De plus, la présence de ces espèces ne permet pas une explication évidente des phases formées. En effet, *Eliaz et Sridhar* rapportent que le système des phosphates de calcium est très complexe et que les facteurs thermodynamiques comme le produit de solubilité ne sont généralement pas suffisants pour prévoir les premières phases qui précipitent [114]. Une phase solide amorphe ou cristallisée peut précipiter et subir une transformation vers une phase plus stable. Un aspect cinétique est donc à prendre en compte. C'est la règle d'Ostwald suivant laquelle lors de la transformation de phase : cristallisation, fusion ou condensation, la phase qui est la première à germer n'est pas nécessairement celle qui est thermodynamiquement la plus stable, mais celle qui a l'énergie libre la plus proche de l'état original [104]. En accord avec cette loi, l'ACP, le DCPD et l'OCP pourraient être des phases précurseurs des apatites, *in vitro et in vivo* et durant le procédé d'électrodéposition car leur cinétique de précipitation est plus rapide que celle des apatites [79], [81]. En effet, *Metoki et al.* affirment le fait que des phases d'ACP, de DCPD et d'OCP sont présentes dès le début de la germination lors de l'électrodéposition et ce sur une épaisseur de quelques dizaines de nanomètres et qu'elles pourraient éventuellement servir de précurseurs à la formation d'apatite [186].

Wang et al., en s'appuyant sur les calculs des valeurs d'enthalpie libre (ΔG) et de vitesse de germination (J) explicitées précédemment montrent que pour une électrodéposition menée à 80°C et une densité de courant de 10 mA/cm^{-2}, l'HAP est plus stable thermodynamiquement que l'OCP qui est lui-même plus stable que le DCPD ($\Delta G_{HAP} > \Delta G_{OCP} > \Delta G_{DCPD}$ en valeur absolue) pour des pH supérieurs à 6. Par contre, la vitesse de germination du DCPD est toujours supérieure à celle de l'OCP qui est elle-même toujours supérieure à celle de l'HAP ($J_{DCPD} > J_{OCP} > J_{HAP}$) [183]. *Eliaz et Sridhar* montrent que pour une solution à 60°C, le DCPD ne devrait pas précipiter alors que l'HAP peut être formée pour un pH supérieur à 7,2 et l'OCP peut précipiter dans n'importe quelle gamme de pH [114]. A noter que peu d'études sont réalisées sur la ns-HAP. *Lu et Leng* rapportent néanmoins que la précipitation de ns-HAP est moins favorable thermodynamiquement que l'HAP et est semblable à l'OCP mais la vitesse de germination est plus importante que celle de l'HAP et donc proche de celle de l'OCP [184]. Enfin, la transformation de l'OCP en HAP peut se faire via : (1) un processus de dissolution et de reprécipitation des cristaux en HAP et (2) une hydrolyse *in situ* (par transformation

topotactique) accompagnée de la consommation de calcium de la solution environnante et/ou de la libération des ions phosphate dans la solution [187].

Ces différentes études nous permettent de mieux appréhender la composition des revêtements formés lors de notre travail. Il a en effet pu être vu précédemment qu'un tapis d'OCP ainsi que des cristaux de DCPD sont observés pour des temps courts d'électrodéposition. Pour un temps plus long, trois phases composent le revêtement : DCPD, OCP et ns-HAP. Il a également été mis en évidence que pour ces temps plus longs, le revêtement le plus proche du substrat est composé de ns-HAP alors que le plus éloigné est composé d'OCP.

Pour des temps courts, nous pouvons expliquer la présence d'OCP par le fait que cette phase, bien qu'elle soit thermodynamiquement moins stable que l'apatite, est favorisée si on considère l'aspect cinétique qui l'emporte lors de l'électrodéposition menée uniquement durant 1 minute.

Pour des temps longs, l'OCP formé en premier sur le substrat a le temps de s'hydrolyser en apatite suivant les équations (IV.9) ou (IV.10) [79]. A noter que ces réactions sont écrites pour former de l'HAP mais peuvent être adaptée pour conduire à une ns-HAP. Aussi la réaction (IV.9) semble la plus probable dans notre cas car des ions calcium sont disponibles dans l'électrolyte lors de la réaction.

$$Ca_8H_2(PO_4)_6, 5H_2O + 2\ Ca^{2+} + 4\ H_2O \rightarrow 2\ Ca_5(PO_4)_3OH + 3\ H_2O + 4\ H_3O^+ \quad \text{(IV.9)}$$

$$1{,}25\ Ca_8H_2(PO_4)_6, 5H_2O \rightarrow 2\ Ca_5(PO_4)_3OH + 1{,}5\ H_3PO_4 + 3\ H_2O \quad \text{(IV.10)}$$

Les cristaux nouvellement formés c'est-à-dire les plus loin de la surface de la cathode ne vont pas avoir le temps de s'hydrolyser et vont donc restés sous forme d'OCP. La présence de cette phase peut également être expliquée par son éloignement par rapport à la surface de la cathode menant à un pH plus bas pouvant favoriser sa formation et gêner son hydrolyse en apatite.

Dans tous les cas la présence du DCPD, généralement observée au-dessus du revêtement, peut provenir de l'éloignement de la surface de la cathode et donc d'un pH beaucoup moins basique, plus proche du pH de l'électrolyte (4,5), ce qui favoriserait sa formation et pourrait même correspondre à son domaine de stabilité thermodynamique (Figure I-15). De plus, la formation d'OCP peut être régie suivant les équations (IV.11) et (Eq. IV.12) ci-après [187]. Il faut noter que la réaction (IV.12) semble la plus probable dans nos conditions de synthèse car elle implique des ions HPO_4^{2-} et non PO_4^{3-} qui ne sont certainement pas majoritaires dans l'électrolyte. Aussi, d'après cette équation la formation d'OCP résulte en une acidification partielle (libération d'ion H^+) et donc favoriserait encore une fois la formation de DCPD. Aussi l'équation précédente (IV.9) traduisant l'hydrolyse de l'OCP vers l'HAP engendre aussi une acidification locale du milieu.

$$8\ Ca^{2+} + 2\ HPO_4^{2-} + 4\ PO_4^{3-} + 5\ H_2O \rightarrow Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4, 5H_2O \quad \text{(IV.11)}$$

$$8\ Ca^{2+} + 6\ HPO_4^{2-} + 5\ H_2O \rightarrow Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4, 5H_2O + 4\ H^+ \quad \text{(IV.12)}$$

Concernant le choix du temps d'électrodéposition, il a pu être observé que les revêtements obtenus pour des temps longs (5 et 10 min) sont très hétérogènes à cause des cratères créés par les bulles de dihydrogène qui se dégagent de la surface de l'échantillon. Ces derniers pourraient aussi être peu cohésifs.

Afin de choisir entre les différents temps d'électrodéposition, les épaisseurs des revêtements obtenus ont été mesurées. En effet, un point du cahier des charges indique que l'épaisseur du revêtement doit être inférieure à 2 µm.

Plusieurs techniques ont alors été mises en place afin de mesurer l'épaisseur du revêtement. Cette tâche semble en effet complexe en raison, une fois de plus, de la rugosité du substrat. Il faut tout de même remarquer que contrairement au procédé d'immersions successives étudié précédemment, un revêtement peut être déposé sur une surface lisse afin de s'affranchir de la rugosité. En effet, ce changement de rugosité de surface ne devrait pas influencer les phases ainsi que l'épaisseur du revêtement obtenu. C'est pour cette raison que les épaisseurs ont été mesurées sur des cales.

Dans un premier temps, une partie de la cale a été masquée lors de l'électrodéposition afin de pouvoir observer au MEB le titane et le revêtement grâce à une coupe transversale (Figure IV-15a). Dans ce cas, des cales simplement usinées et donc sans traitement de surface (nommées M) ont été utilisées. Grâce à 10 mesures réalisées en triplicata, une moyenne ainsi qu'un écart-type ont pu être calculés (Tableau IV-1). Cependant, il faut noter que la mesure de l'épaisseur des revêtements est difficile à réaliser. D'une part, pour les revêtements les plus fins, la planéité des échantillons est essentielle afin d'obtenir une mesure correcte. De plus, le « tapis » formé par les aiguilles est simple à mesurer mais la présence de plaquettes de DCPD rend difficile la mesure. Celles-ci n'ont pas été prises en compte dans la mesure de l'épaisseur du revêtement car leur taille peut atteindre 20 µm. D'autre part, pour les revêtements les plus épais correspondant à des temps d'électrodéposition de 5 et 10 minutes, les épaisseurs sont très variables menant donc à des écart-types élevés.

Ensuite, pour comparaison, la technique du calotest a été utilisée. Brièvement, celle-ci consiste à abraser le revêtement puis le substrat à l'aide d'une bille tournante enduite de pâte diamantée créant ainsi 2 cercles concentriques (Figure IV-15b). Il est ensuite possible de remonter à l'épaisseur du revêtement grâce à la mesure des diamètres de ces 2 cercles (plus de détails en annexe A-2-2-c). Ces derniers sont généralement mesurés au microscope optique. Cependant, pour les revêtements élaborés les plus fins (temps d'électrodéposition de 1 minute), une observation MEB a été indispensable. L'utilisation d'un substrat lisse, qui aurait facilité les mesures, n'a pas été

possible pour cette manipulation car les revêtements se détachaient par plaque lors de l'abrasion par la bille et ne permettaient donc pas d'obtenir des cercles pour la mesure. Les surfaces rugueuses classiques SLA 311 ont donc été utilisées.

Enfin, les revêtements ont été réalisés sur une cale usinée et polie (320 à 2400 puis pâte diamantée 3 µm puis OP-S) qui a été immergée partiellement dans la solution d'électrodéposition afin de créer une marche entre le substrat et le revêtement. La présence de cette marche a été vérifiée au MEB avant que sa hauteur soit mesurée par AFM. Il a été notamment observé que la marche était correctement formée mais que des plaquettes de DCPD étaient présentes à l'interface ce qui pourrait perturber la mesure. Celles-ci sont en effet visibles sur la recomposition 3D AFM (Figure IV-15c). Les mesures de la marche ont été réalisées en ne tenant pas compte de cette zone. A noter que la technique AFM ne permet pas de mesurer la marche, trop importante pour le levier de la pointe AFM, pour des temps d'électrodéposition longs.

Les résultats d'épaisseurs mesurées avec les différentes techniques énoncées précédemment sont présentés dans le Tableau IV-1.

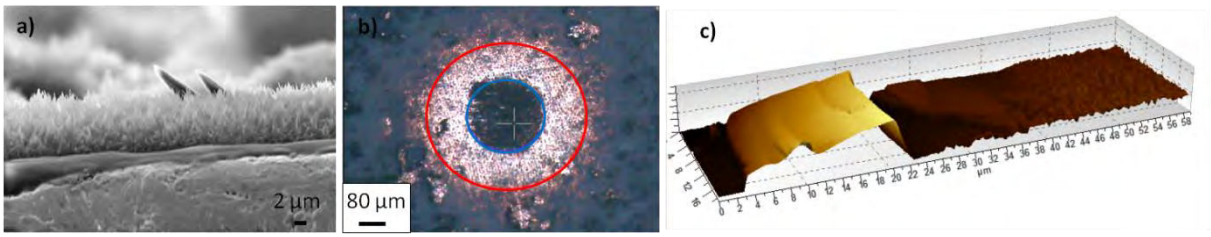


Figure IV-15 : Mesures de l'épaisseur du revêtement électrodéposé par : a) observation d'une coupe transversale au MEB (5 min); b) observation au microscope optique des cercles créés par l'abrasion au calotest (5 min); c) la mesure d'une marche par AFM (30 s)

Tableau IV-1 : Résultats de la mesure de l'épaisseur (en µm) des revêtements électrodéposés pendant 30 secondes, 1 minute, 2, 5 et 10 minutes par observation transversale par MEB, calotest et AFM

Technique / Temps (min)	MEB	Calotest	AFM
0,5	1,6 ± 0,2	-	0,97 ± 0,04
1	2 ± 1	1,9 ± 0,2	1,07 ± 0,04
2	2,7 ± 0,5	-	2,15 ± 0,06
5	9 ± 2	6,0 ± 0,5	> 3,6
10	13 ± 3	7,4 ± 0,7	> 3,6

Pour conclure cette partie, le revêtement obtenu après 1 minute d'électrodéposition semble adapté au cahier des charges qui a été établi au début de ce travail de thèse. En effet, celui-ci possède une épaisseur comprise entre 1 et 2 µm. De plus, ce revêtement est couvrant et semble homogène. Aussi, celui-ci est composé principalement d'un tapis d'OCP et de quelques plaquettes de DCPD ; qui sont des phases métastables connues pour être des précurseurs de l'apatite et qui ont déjà été proposées pour des applications de reconstruction osseuse [188], [189]. Nous pouvons donc penser que leur présence devrait contribuer à l'ostéointégration de l'implant dentaire.

IV-1-2 Potentiel appliqué

Le potentiel précédemment choisi (- 1,6 V/ECS) permettait d'obtenir un revêtement couvrant et homogène. Cependant, une étude concernant ce paramètre a également été menée. Un potentiel plus élevé en valeur absolue permettrait d'accentuer la réaction de réduction de l'eau à la surface de l'échantillon impliquant la création d'un nombre plus important d'ions OH^- et donc une élévation du pH plus importante qui pourrait déplacer l'équilibre entre les ions orthophosphate et hydrogénophosphate en solution vers la formation d'ions orthophosphate PO_4^{3-} favorable à la précipitation d'apatite. Cependant, cela engendrerait également la formation de plus de bulles de dihydrogène et pourrait induire une inhomogénéité dans le revêtement, voire provoquer sa délamination.

Le potentiel a alors été réglé à -3, -2, -1,7, -1,5 et -1 V alors que le temps d'électrodéposition a été fixé à 1 minute. Les autres paramètres utilisés sont reportés dans le schéma présenté sur la Figure IV-16.

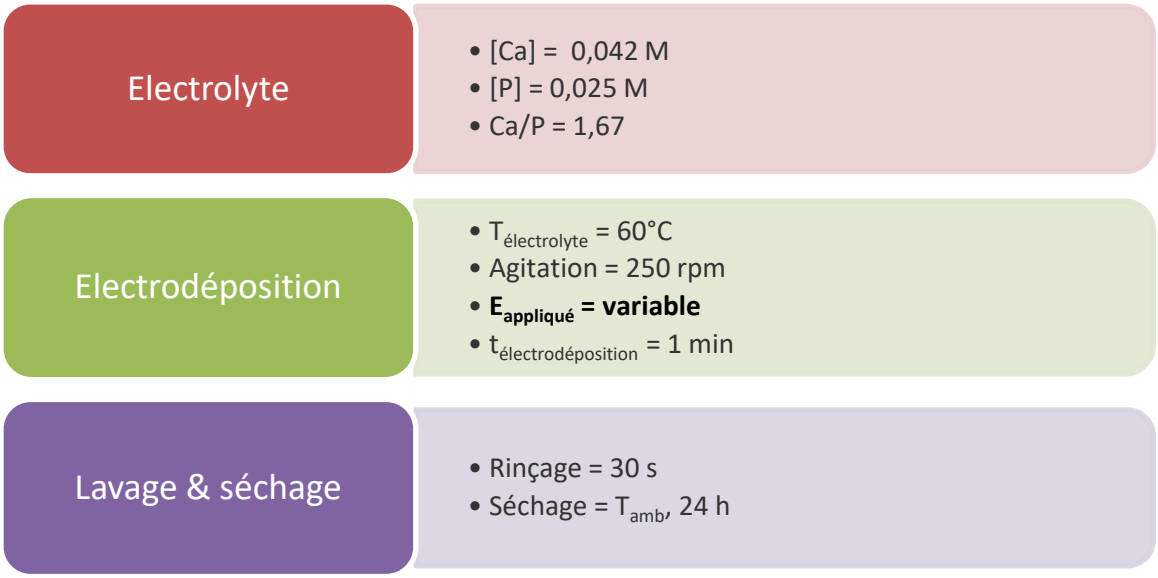


Figure IV-16 : Schéma résumant les conditions opératoires sélectionnées pour l'étude du potentiel appliqué

Pour les potentiels bien inférieurs à - 1,6 V/ECS en valeur absolue, le revêtement obtenu est semblable à celui observé pour - 1,6 V/ECS mais semble plus fin car du titane ainsi que des particules d'alumine sont toujours visibles (Figure IV-17a). Ceci peut s'expliquer par le fait que la formation d'OH^- est plus lente et donc la précipitation de CaP n'est pas favorisée.

Les potentiels très proches de - 1,6 V/ECS ainsi que - 2 V/ECS permettent d'obtenir un revêtement similaire (Figure IV-17b).

Quant aux potentiels supérieurs à - 1,6 V/ECS en valeur absolue, il est possible d'observer un revêtement inhomogène, craquelé et comportant des cratères (Figure IV-17c). C'est bien ce qui était prévu en raison de la formation plus importante de bulles de dihydrogène qui altère la formation d'un revêtement continu et homogène.

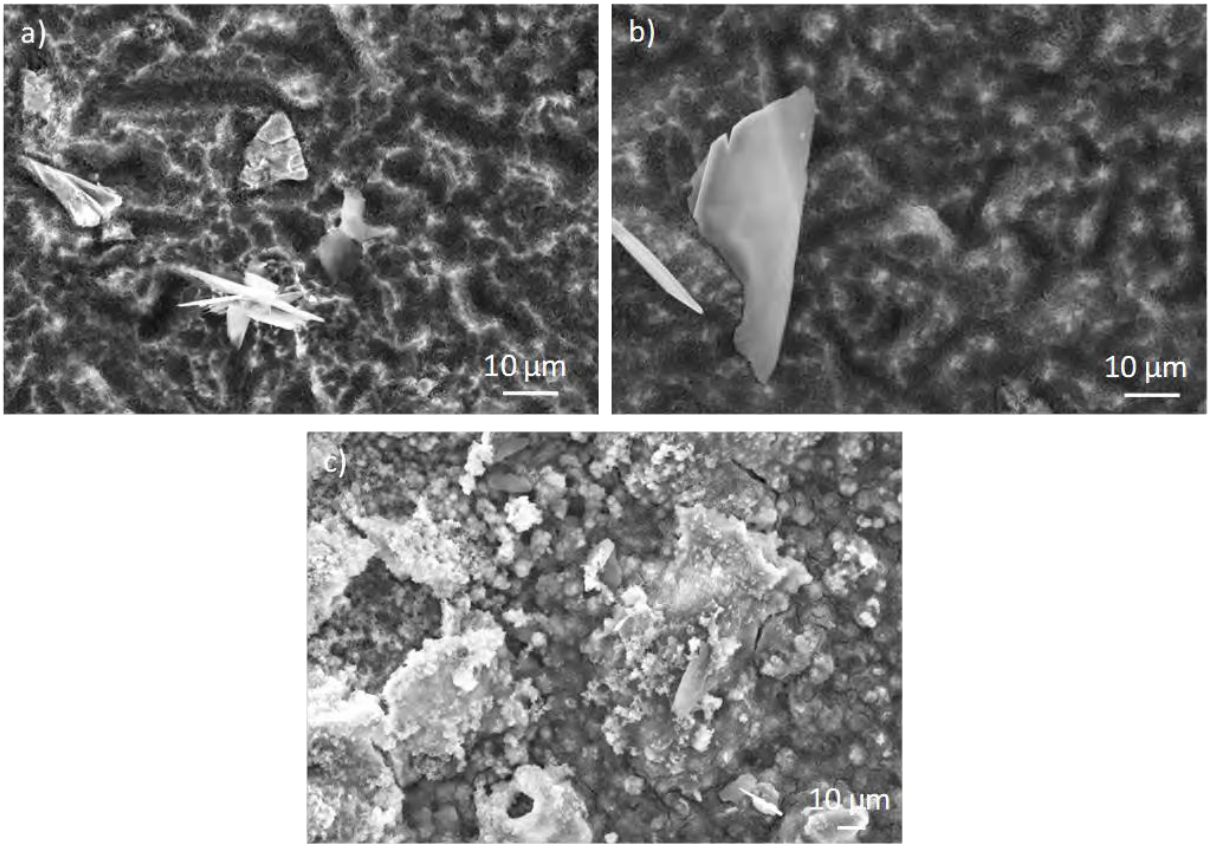


Figure IV-17 : Micrographies MEB du revêtement obtenu avec un potentiel appliqué de a) - 1 V; b) - 2 V et c) - 3 V

Le potentiel initialement choisi de - 1,6 V/ECS a donc été conservé pour la suite des expériences car il semble le plus adapté même si une gamme de potentiels peut être utilisée.

IV-1-3 Température de l'électrolyte

La température ambiante étant dépendante du jour au cours duquel l'expérience est réalisée, celle-ci ne sera pas choisie. Les températures ont alors été fixées à 30, 40 et 50 °C afin de comparer les revêtements obtenus avec celui réalisé à 60 °C. Pour rappel, une température supérieure à 60 °C ne peut être fixée car c'est la limite maximale d'utilisation de l'électrode de référence au calomel saturé. Les paramètres de l'expérience sont présentés sur le schéma de la Figure IV-18.

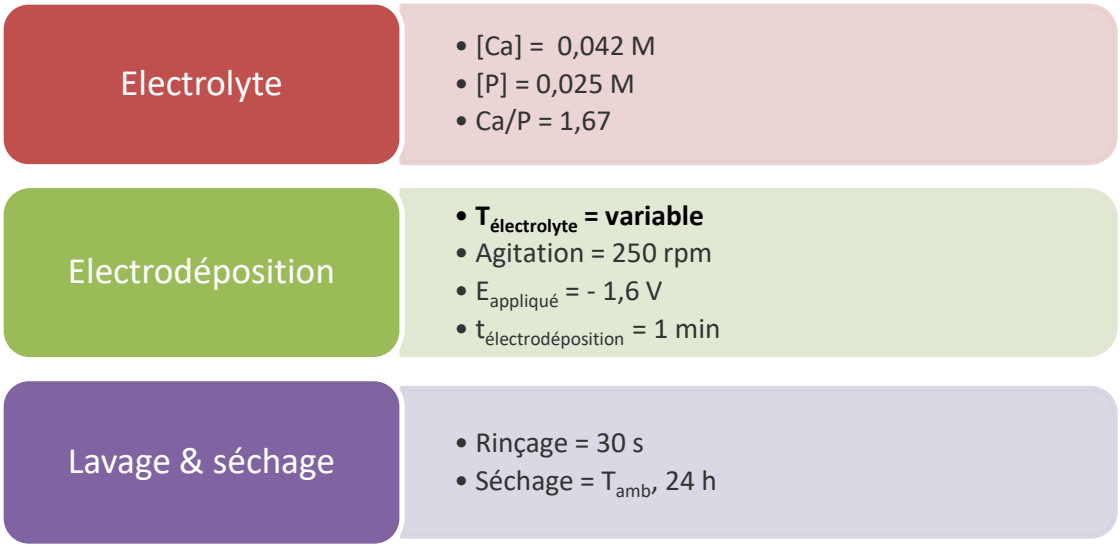


Figure IV-18 : Schéma résumant les conditions opératoires sélectionnées pour l'étude de la température de l'électrolyte

Sur la Figure IV-19a représentant le revêtement obtenu avec une température de l'électrolyte égale à 30 °C, il est possible d'observer uniquement des plaquettes de DCPD sur le substrat de titane.

Puis à 40 °C, le « tapis » d'aiguilles nanométriques précédemment observé commence à se former. Celui-ci semble être très fin car il suit la rugosité du substrat (Figure IV-19b). Des plaquettes sont également présentes. Ce tapis d'aiguilles semble croître en épaisseur lorsque la température de l'électrolyte augmente comme cela peut être observé à 50 °C où la rugosité est toujours bien visible (Figure IV-19c) et à 60 °C où elle l'est moins (Figure IV-19c). Des plaquettes, vraisemblablement de DCPD, sont observées dans tous les cas.

Il apparait clairement que la diminution de la température de l'électrolyte favorise la formation de plaquettes de DCPD et limite la formation des aiguilles nanométriques d'OCP. Ce résultat est en accord avec la littérature suivant laquelle les températures élevées favorisent la formation d'OCP et d'apatite alors que des températures plus basses favorisent celle du DCPD [73].

De plus, la température de l'électrolyte est un paramètre déterminant sur la quantité de CaP formée pourrait être lié à la solubilité rétrograde de la plupart des phosphates de calcium en fonction de la température.

La température initialement choisie de 60 °C est donc conservée pour la suite des expériences car celle-ci permet d'obtenir un tapis couvrant d'aiguilles nanométriques ayant l'épaisseur souhaitée comme démontré précédemment. Aussi une température plus élevée pourrait permettre d'obtenir une meilleure cristallinité du revêtement ainsi qu'une meilleure adhérence au substrat mais travailler à une température au-delà de 60°C n'etait pas possible avec notre dispositif expérimental.

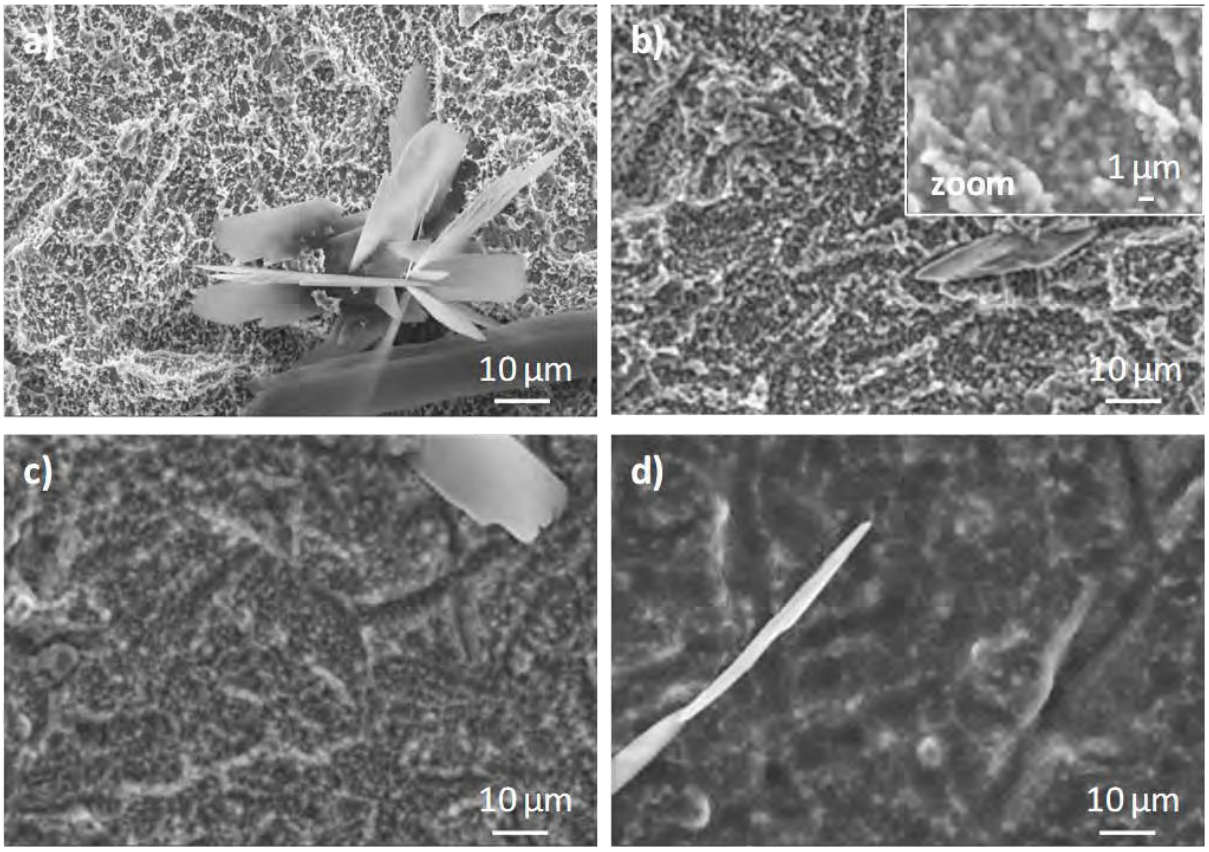


Figure IV-19 : Micrographies MEB des revêtements obtenus avec une température d'électrolyte égale à : a) 30°C; b) 40°C; c) 50°C et d) 60°C

IV-1-4 Concentration en ions calcium et phosphate et rapport Ca/P de la solution

Afin d'étudier l'effet des concentrations des précurseurs calcium et phosphate et du rapport Ca/P, l'électrodéposition a été réalisée avec les solutions électrolytiques présentées dans le Tableau IV-2. Les autres paramètres sont fixés comme présentés dans la Figure IV-20.

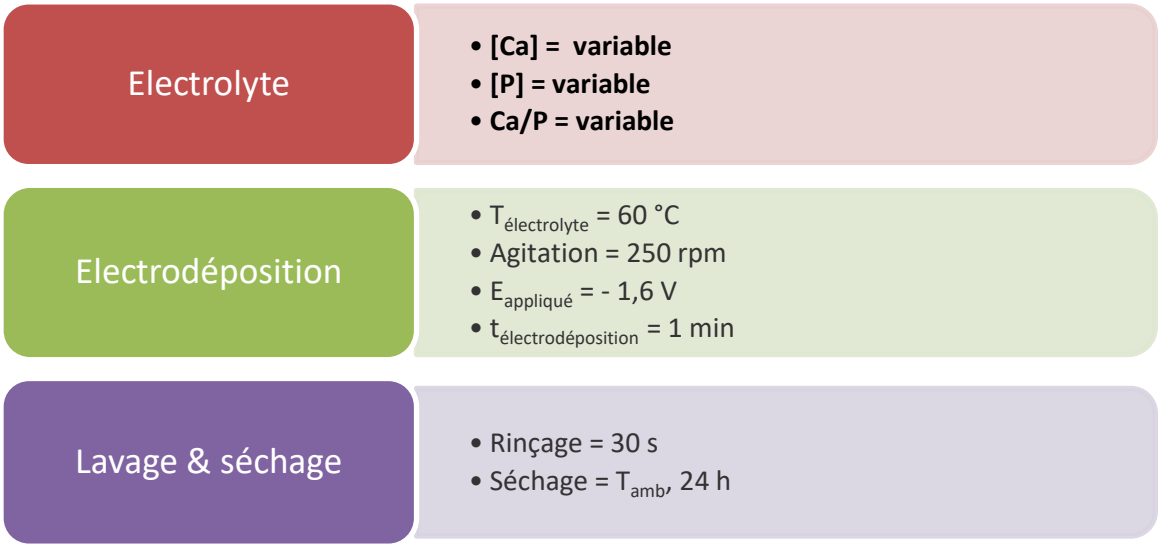


Figure IV-20 : Schéma résumant les conditions opératoires sélectionnées pour l'étude de la concentration en ions calcium et phosphate ainsi que du rapport Ca/P de la solution

Tableau IV-2 : Concentrations et caractéristiques physico-chimiques des différentes solutions électrolytiques utilisées pour l'électrodéposition de CaP

Nom de l'électrolyte	[Ca] (mol/L)	[P] (mol/L)	Ca/P	pH ± 0,03 25°C	Description
S1	0,0420	0,0252	1,67	4,09	Concentration habituelle
S2	0,0630	0,0378	1,67	4,04	1,5 x S1
S3	0,0840	0,0506	1,67	4,00	2 x S1
S4	0,0420	0,0420	1	4,02	[P] augmentée
S5	0,0420	0,0323	1,3	4,09	[P] augmentée
S6	0,0420	0,0182	2,3	4,25	[P] diminuée
S7	0,0580	0,0252	2,3	4,11	[Ca] augmentée

Dans un premier temps, l'effet de la concentration en ions calcium et phosphate a été étudié en préservant le même rapport Ca/P de 1,67. Pour cela, les solutions S1, S2 et S3 décrites dans le Tableau IV-2 ont été utilisées. Le revêtement obtenu avec S1 est notre référence car il a été obtenu

dans des conditions similaires à celles décrites précédemment lors de l'étude des durées de dépôt. Il apparait sur les micrographies MEB de la Figure IV-21 a et b que les revêtements obtenus par S1 et S2 semblent avoir la même morphologie. En effet, ils sont tous les deux composés d'aiguilles nanométriques et de plaquettes comme décrits précédemment. Le revêtement obtenu avec la solution S3 correspondant au double de la concentration habituelle semble être composé de beaucoup moins de plaquettes alors que le tapis formé par les aiguilles nanométriques semble plus épais et des pelotes de ces mêmes aiguilles apparaissent (Figure IV-21c).

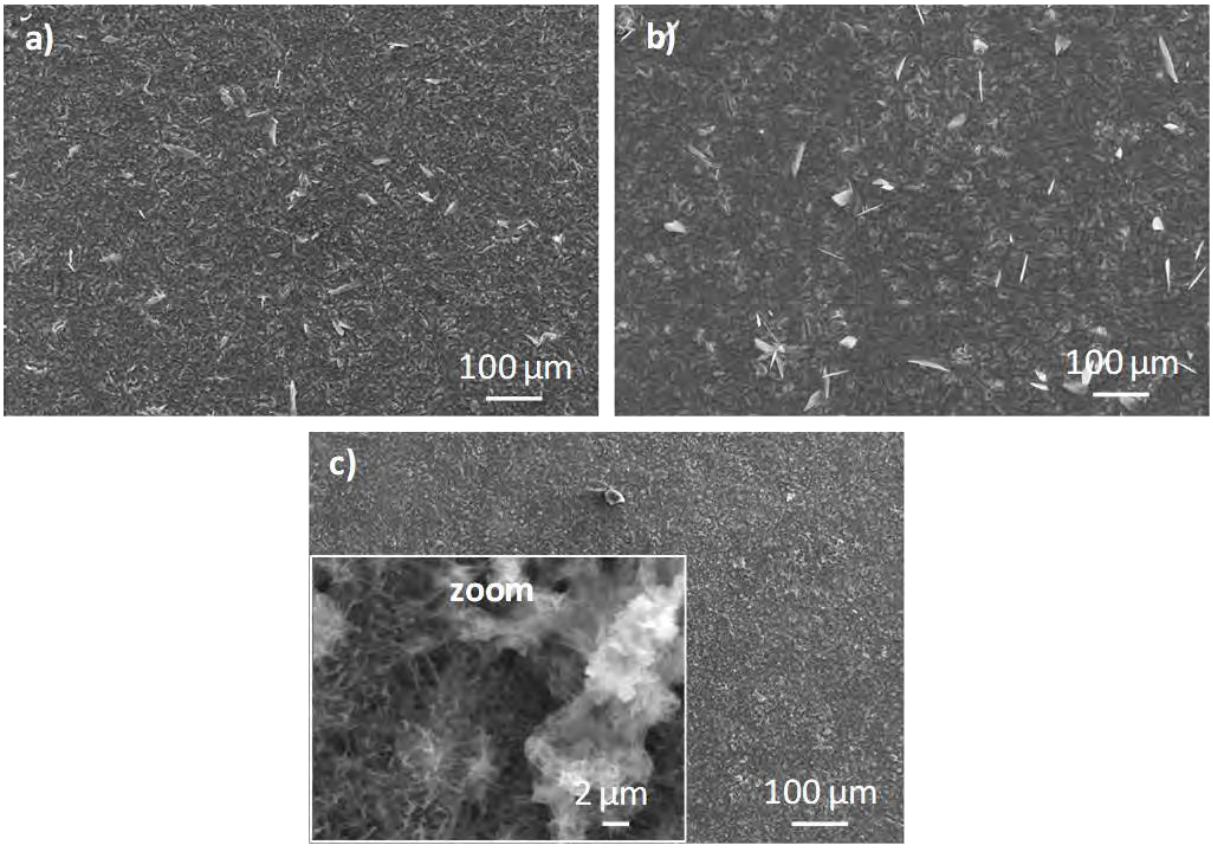


Figure IV-21 : Micrographies MEB de revêtements obtenus avec l'électrolyte a) S1; b) S2 et c) S3

Les spectres FTIR et Raman (non présentés ici) sont similaires pour ces trois revêtements. Ils correspondent à celui obtenu précédemment pour un temps d'électrodéposition d'une minute. Ils mettent encore une fois en évidence la présence d'une phase semblable à l'OCP ainsi qu'une phase de type DCPD.

Les concentrations en calcium et phosphate ne semblent donc pas jouer un rôle sur la phase de CaP formée lors de l'électrodéposition mais plutôt sur l'épaisseur du revêtement. En effet, le revêtement obtenu avec S3 semble plus épais et forme des pelotes, des agglomérats d'aiguilles nanométriques. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'une concentration plus élevée en ions en solution augmente la sursaturation de l'électrolyte vis-à-vis des phosphates de calcium. Ces conditions

favorisent généralement la germination par rapport à la croissance cristalline se traduisant par des cristaux plus petits et plus nombreux. Cette prévision reste cependant difficile à vérifier compte tenue de la taille nanométrique des aiguilles formées.

Dans un deuxième temps, l'effet du rapport Ca/P sur le revêtement obtenu a été étudié. Le rapport Ca/P a donc été ajusté à 1, 1,3 et 2,3 en modifiant la concentration en phosphate. Ces solutions correspondent aux solutions S4, S5 et S6 respectivement décrites dans le Tableau IV-2.

Il apparait au MEB que les revêtements obtenus avec un rapport Ca/P de 1 et 1,3 sont semblables à celui de référence obtenu avec un rapport égal à 1,67 (S1) (Figure IV-22 a et b). Ils sont en effet toujours composés de ce tapis d'aiguilles nanométriques et de plaquettes micrométriques. Contrairement à cela, le revêtement obtenu avec un rapport Ca/P de 2,3 ne montre aucunes plaquettes et laisse apparaitre des pelotes encore une fois constituées d'aiguilles nanométriques (Figure IV-22 c).

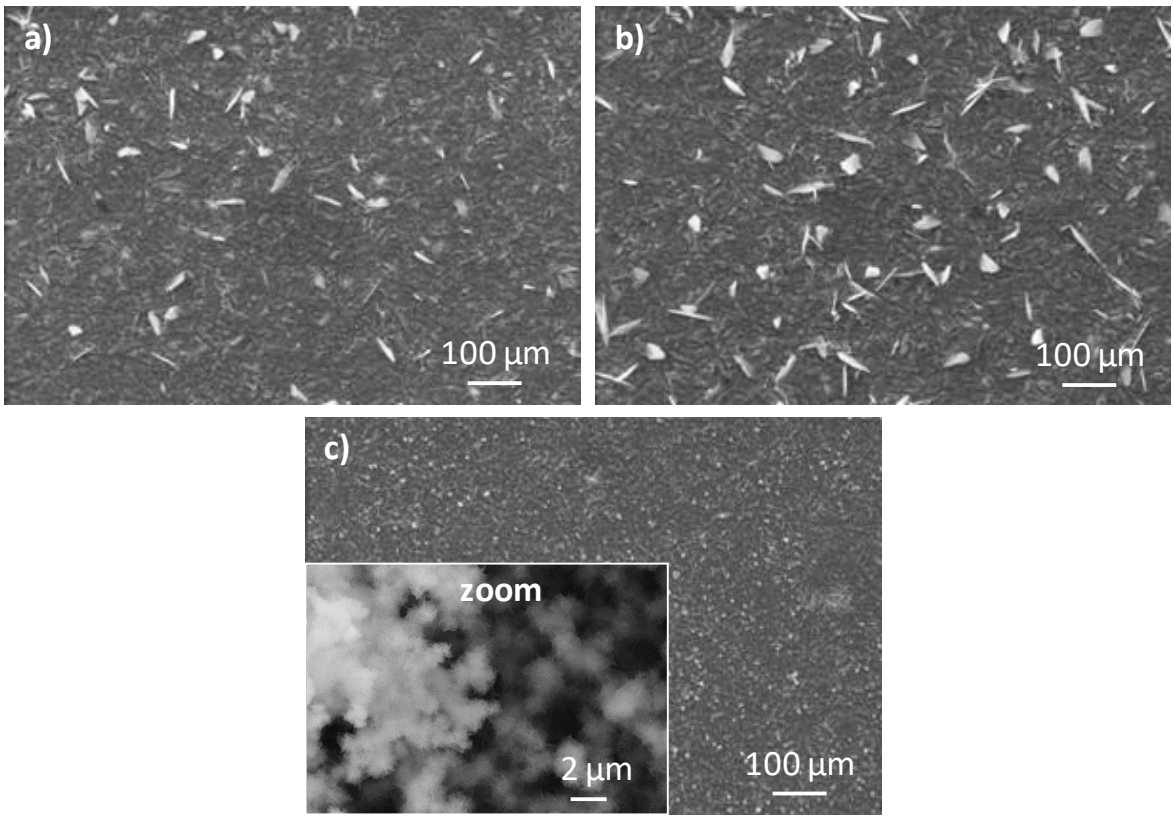


Figure IV-22 : Micrographies MEB de revêtements obtenus avec un rapport Ca/P dans l'électrolyte égal à : a) 1 (S4); b) 1,3 (S5) et c) 2,3 (S6)

La caractérisation par spectroscopies FTIR et Raman (résultats non présentés ici) conduit encore une fois à des résultats similaires pour tous les revêtements élaborés à partir de rapports Ca/P différents de 1,67. Elle permet de mettre en évidence la présence de DCPD ainsi qu'une autre phase pouvant correspondre à l'OCP.

Enfin, le rapport Ca/P a également été ajusté à 2,3 en augmentant, cette fois-ci, la concentration en calcium (solution S7). La caractérisation par MEB et spectroscopies FTIR et Raman (résultats non présentés ici) a montré que le revêtement obtenu était similaire au revêtement obtenu avec la solution S6 ayant le même rapport Ca/P (Ca/P = 2,3).

Pour conclure, un même revêtement composé d'un tapis d'aiguilles nanométriques d'OCP et de plaquettes micrométriques de DCPD a été obtenu pour des concentrations variables en calcium et en phosphate en conservant le rapport Ca/P de 1,67 ainsi que pour des rapports Ca/P inférieurs à 1,67. Des pelotes d'aiguilles nanométriques ont été observées pour la solution la plus concentrée en calcium et en phosphate ; l'épaisseur supposée plus importante du revêtement peut être due au plus grand nombre d'ions calcium et phosphate en solution pouvant réagir. Enfin, pour un rapport Ca/P égal à 2,3 aucune trace de DCPD n'a été observée et ce rapport permettrait d'obtenir un revêtement monophasé constitué d'aiguilles nanométriques correspondant à de l'OCP. Des pelotes ont également été observées. Il a aussi été démontré que le fait de diminuer la concentration en phosphate ou d'augmenter la concentration en calcium afin d'obtenir un même rapport Ca/P ne semble pas avoir d'influence sur le revêtement finalement obtenu même si une caractérisation plus précise de la cristallinité de la phase formée ainsi que de la quantité de phase déposée devrait être réalisée. Cependant la DRX ne permet pas d'analyser nos échantillons revêtus y compris en mode rasant et ne permet donc pas d'en étudier la cristallinité. Aussi, la quantité de revêtement est très faible et donc la masse associée est difficile à détecter.

IV-1-5 Agitation de l'électrolyte

L'agitation de l'électrolyte pendant la manipulation pourrait être un paramètre important pour l'électrodéposition de CaP. En effet, elle semble essentielle afin d'homogénéiser la solution en termes de température et de composition chimique et peut également jouer un rôle sur la diffusion des espèces en solution. *A contrario*, on peut supposer qu'une trop forte agitation pourrait empêcher les ions de réagir à l'extrême surface de l'échantillon en réduisant le gradient de pH nécessaire à la précipitation en surface de l'implant. Le revêtement de CaP a été électrodéposé à partir de la solution habituelle sans agitation ou agitation rapide (600 rpm) par rapport à l'expérience de référence (250 rpm). Les paramètres choisis sont résumés sur la Figure IV-20.

Electrolyte	• [Ca] = 0,042 M • [P] = 0,025 M • Ca/P = 1,67
Electrodéposition	• $T_{électrolyte}$ = 60 °C • **Agitation = variable** • $E_{appliqué}$ = - 1,6 V • $t_{électrodéposition}$ = 1 min
Lavage & séchage	• Rinçage = 30 s • Séchage = T_{amb}, 24 h

Figure IV-23 : Schéma résumant les conditions opératoires sélectionnées pour l'étude de l'agitation de l'électrolyte

Les images MEB (Figure IV-24) suggèrent une diminution de la quantité de plaquettes de DCPD dans le revêtement déposé sans agitation. En revanche, la couche d'aiguilles nanométriques de ce revêtement semble beaucoup moins lisse et donc moins homogène. En dehors de la morphologie, les spectroscopies FTIR et Raman ont montré que les phases de CaP composant les différents revêtements restaient identiques. L'agitation n'a donc pas un effet significatif sur le revêtement obtenu. A noter toutefois qu'une agitation semble être indispensable pour obtenir un revêtement homogène.

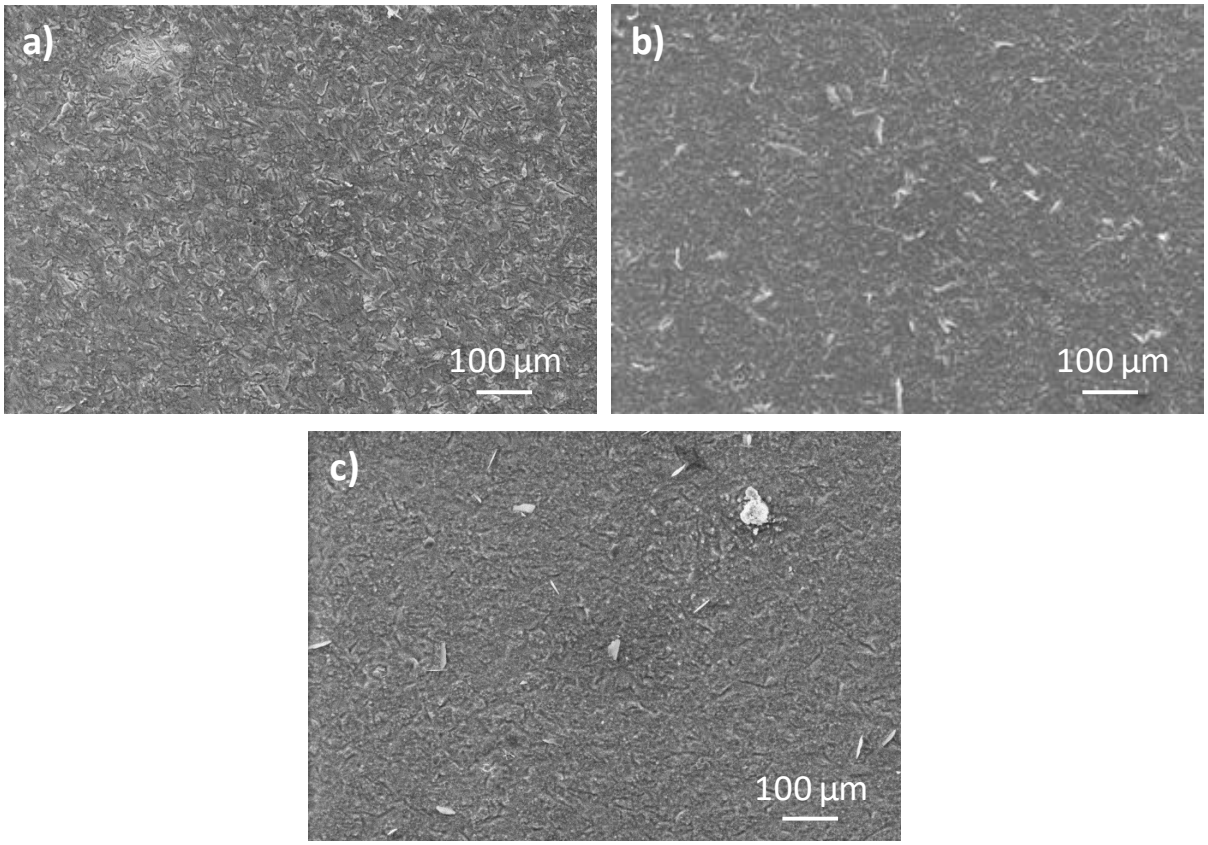


Figure IV-24 : Micrographies MEB de revêtements obtenus a) sans agitation; b) avec une agitation de 270 rpm et c) avec une agitation de 600 rpm

Afin de conclure cette étude paramétrique, nous avons premièrement pu établir que le temps d'électrodéposition avait une grande influence sur le revêtement finalement obtenu. En effet, celui-ci affecte l'épaisseur du revêtement ainsi que les phases de CaP le composant. Deuxièmement, le potentiel appliqué, responsable de l'élévation locale du pH mais aussi de la formation de bulles de dihydrogène à la surface de l'échantillon, est responsable de la formation d'un revêtement plus ou moins épais mais aussi plus ou moins homogène. La température de l'électrolyte, quant à elle, influe sur les phases de CaP formées : une température proche de l'ambiante favorisera la formation de DCPD alors que les températures plus élevées favoriseront la formation d'OCP et d'apatite. Finalement les concentrations en ions en solution ainsi que le rapport Ca/P semblent jouer un rôle mineur sur les phases de CaP formées. Tout comme l'agitation qui, bien que nécessaire, ne semble pas avoir d'influence significative.

Pour la suite de notre étude, les paramètres sélectionnés sont repris comme reporté sur la Figure IV-23. Pour rappel, ils nous permettent d'obtenir un revêtement couvrant, d'une épaisseur comprise entre 1 et 2 µm et biphasé comprenant du DCPD et de l'OCP.

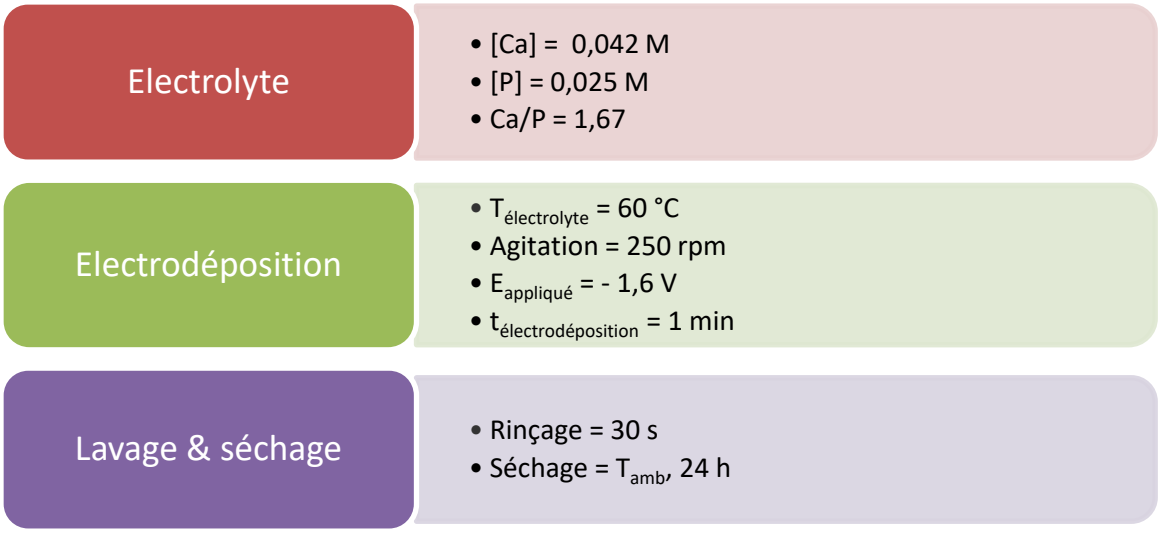


Figure IV-25 : Schéma résumant les conditions opératoires sélectionnées pour notre travail suite à l'étude paramétrique

IV-2. Caractérisation topographique de la surface

La mesure de la rugosité de surface des échantillons revêtus n'a pas non plus pu être effectuée par la technique d'interférométrie pour les mêmes raisons que celles présentées dans le Chapitre III, le profilomètre mécanique a donc été utilisé. Comme pour les échantillons revêtus par le procédé d'immersions successives, il est possible d'observer que la rugosité mesurée sur la surface revêtue par électrodéposition est semblable à celle non revêtue.

Tableau IV-3 : Paramètres de rugosité obtenus par profilomètre mécanique sur un substrat non revêtu et revêtu par électrodéposition pour un temps d'une minute à -1,6 V/ECS

Paramètres de rugosité	Substrat	Substrat revêtu
Ra (µm)	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1
Rq (µm)	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Rz (µm)	7,5 ± 0,4	7,0 ± 0,6
Rsk	-0,3 ± 0,4	-0,2 ± 0,4
Rku	3,3 ± 0,6	3,2 ± 0,4

La mouillabilité de l'échantillon a été évaluée après 10 minutes d'exposition au rayonnement UV. En effet cette exposition permet, une fois encore, d'effacer l'histoire de la surface du revêtement pouvant être plus ou moins polluée par l'air ambiant en fonction de la durée entre la formation du revêtement et la mesure de l'angle de goutte. Il a été impossible de mesurer l'angle de goutte car la goutte s'est étalée complètement révélant donc une surface très hydrophile.

Finalement, les résultats concernant la rugosité ainsi que la mouillabilité de surface des échantillons revêtus par le procédé d'électrodéposition sont semblables à ceux obtenus pour les échantillons revêtus par le procédé d'immersions successives à savoir une surface hydrophile et présentant une rugosité comprise entre 1 et 2 µm qui constituent des atouts pour favoriser l'ostéointégration de l'implant.

IV-3. Etude de l'adhérence substrat/revêtement

Afin de tester l'adhérence du revêtement à l'implant, le même test de vissage/dévissage précédemment utilisé pour évaluer l'adhérence du revêtement élaboré par le procédé d'immersions successives a été réalisé. Pour rappel, celui-ci consiste à visser l'implant dans une mâchoire artificielle, à le laisser quelques heures puis à le dévisser et à observer au MEB les éventuels dommages du revêtement sur l'implant. La procédure est décrite plus en détail dans la partie III-4.

La Figure IV-26 présente les essais réalisés sur les implants revêtus par électrodéposition pendant 1 et 10 minutes. A faible grossissement, les hauts de filet apparaissent plus sombres que le reste de l'implant. A plus fort grossissement, il est possible d'observer qu'aucun dommage n'a été réalisé en bas de spire pour les deux échantillons. Quelques particules de résine, semblables à celles observées lors du même test sur le revêtement obtenu par le procédé d'immersions successives, sont présentes en bas de filet (entourées en rouge sur la Figure IV-26) . En haut de spires, le revêtement n'est que très peu visible car recouvert encore une fois par la résine qui s'est collée à l'implant, certainement à cause d'un échauffement du plastique constituant la mâchoire lors du

vissage et du dévissage. Nous pouvons supposer que le revêtement est toujours présent en dessous de cette couche de résine. Même si cela n'était pas le cas, le revêtement recouvre une grande majorité de la surface de l'implant et pourra alors jouer son rôle correctement.

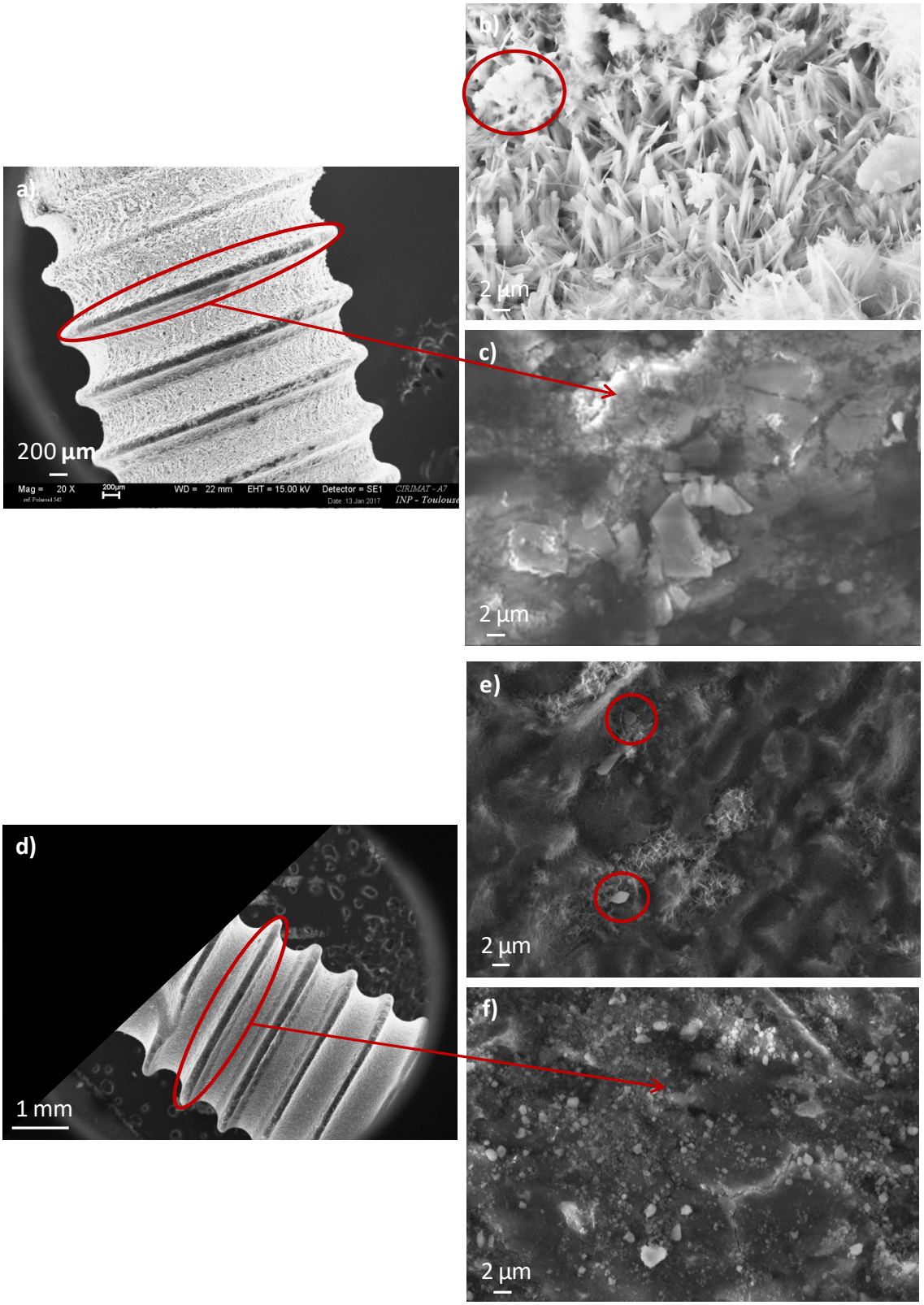


Figure IV-26 : Micrographies MEB d'implants revêtus après le test de vissage /devissage : a) revêtement obtenu après 10 min d'électrodéposition - vue globale; b) - bas de spire; c) - haut de spire et d) revêtement obtenu après 1 min d'électrodéposition - vue globale; e) - bas de spire; f) - haut de spire

IV-4. Vers un système industrialisable : le support multi-échantillons

Afin de traiter un nombre plus important d'échantillons, un support multi-échantillons a été conçu et fabriqué pour revêtir 8 échantillons par lot. Afin de créer ce support, 8 vis permettant la mise en place des échantillons ont été soudées à une tige pouvant être reliée au galvanostat/potentiostat (Figure IV-27). Les parties immergées qui ne sont pas en contact avec les échantillons ont été recouvertes de gaine thermo-rétractable et de silicone afin de les isoler de la solution. La résistivité entre la tige et chaque vis puis avec chaque échantillon a été mesurée afin de s'assurer de la bonne circulation du courant dans l'ensemble de ce montage.

Des revêtements ont ensuite été réalisés à l'aide de ce support. Ces derniers ont été caractérisés par MEB où le tapis d'aiguilles nanométriques et les plaquettes micrométriques de DCPD ont été observés une nouvelle fois (Figure IV-28). Les caractérisations par spectroscopies FTIR et Raman ont également menées à la même composition que précédemment (partie IV-1-1).

Cependant une caractéristique pouvant changer avec ce montage est l'épaisseur du revêtement formé. Pour vérifier que l'épaisseur est toujours inférieure à 2 µm et semblable à celle obtenue précédemment avec le montage simple (1 – 2 µm), des revêtements ont été réalisés sur des échantillons polis possédant une surface masquée. La marche créée a ensuite été mesurée à l'aide d'un profilomètre mécanique. Ainsi, l'épaisseur du revêtement pour 1 min électrodéposition, est de 1,4 ± 0,2 µm.

Le revêtement obtenu possède donc la même composition chimique ainsi que la même épaisseur que les revêtements formés précédemment avec le montage à un substrat. Ce support sera donc utilisé dans la suite de ce travail.

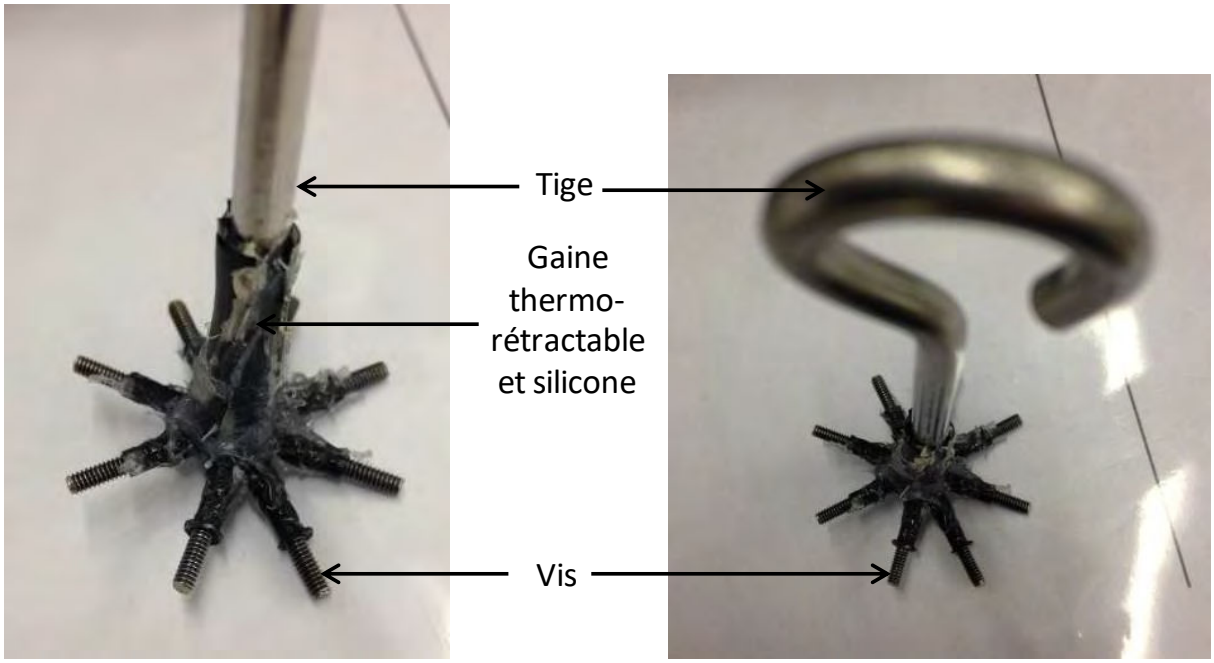


Figure IV-27 : Photographies du support multi-échantillons fabriqué et utilisé

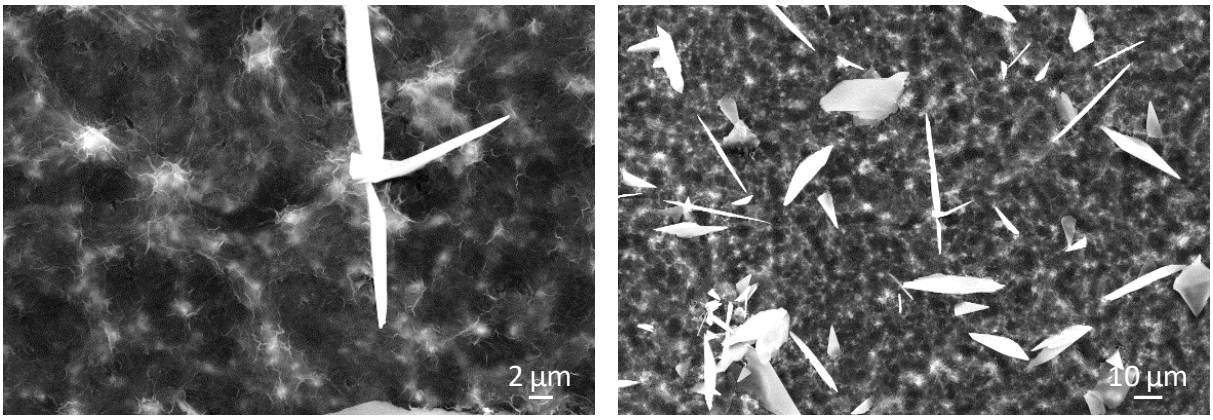


Figure IV-28 : Micrographies MEB d'un revêtement obtenu après 1 minute d'électrodéposition avec le support multi-échantillons

IV-5. Evaluation biologique des échantillons

Des tests d'attachement cellulaire, utilisant des cellules souches mésenchymateuses isolées à partir du stroma de la moelle osseuse (HBMSCs), ont été réalisés au laboratoire de Bioingénierie Tissulaire (BIOTIS) à Bordeaux. Ils permettent de quantifier l'adhésion d'un type cellulaire sur une surface plastique et/ou sur des matériaux modifiés ou non à différents temps après ensemencement et ce, par le dosage de l'activité d'une enzyme lysosomiale : la N acétyl β-D-hexosaminidase [190].

Avant la réalisation du test, les matériaux à tester ont été préalablement incubés 15 min en milieu IMDM *(Iscove's Modified Dulbecco's Medium*) dépourvu de rouge phénol et de sérum.

Le test a été réalisé en plaques de 96 puits dont la surface est de 0,32 cm^2 avec un ensemencement de 50 000 cellules/cm^2.

Les plaques ont été incubées à 37 °C et sacrifiées après 1 h, 3 h et 6 h. Cinq échantillons de chaque série ont été utilisés pour les temps 1 h et 3 h et quatre pour le temps 6 h. Deux échantillons de chaque série ont également été traités sans cellules à un seul temps.

Les résultats sont comparés à ceux obtenus sur la surface témoin : le plastique utilisé en culture cellulaire. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'attachement par rapport à la surface témoin plastique représentant le 100 % d'attachement à chaque temps.

Dans cette étude l'attachement cellulaire a été étudié pour la surface sablée mordancée actuellement utilisée par le partenaire industriel (SLA), la surface sablée mordancée développée dans ce travail (SLA 311) ainsi que la surface SLA 311 revêtue par électrodéposition durant 1 minute. Nous pouvons observer un très bon attachement sur ces différents supports avec environ 70% pour SLA et SLA 311 à 3 et 6 heures et 60% pour l'échantillon revêtu (Figure IV-29).

L'échantillon revêtu par le procédé d'électrodéposition ne semble donc pas favoriser l'attachement cellulaire. Cependant, d'autres études plus poussées telles que des essais de prolifération cellulaire sont nécessaires pour conclure sur l'effet de ce revêtement.

Des revêtements obtenus par électrodéposition montrent en effet l'amélioration de l'expression de la phosphatase alcaline et de l'ostéocalcine qui sont tous deux des principaux marqueurs de la différentiation des ostéoblastes et donc de la néoformation osseuse lors d'une étude *in vitro* ainsi qu'une meilleure apposition osseuse concernant les tests *in vivo* [107], [116].

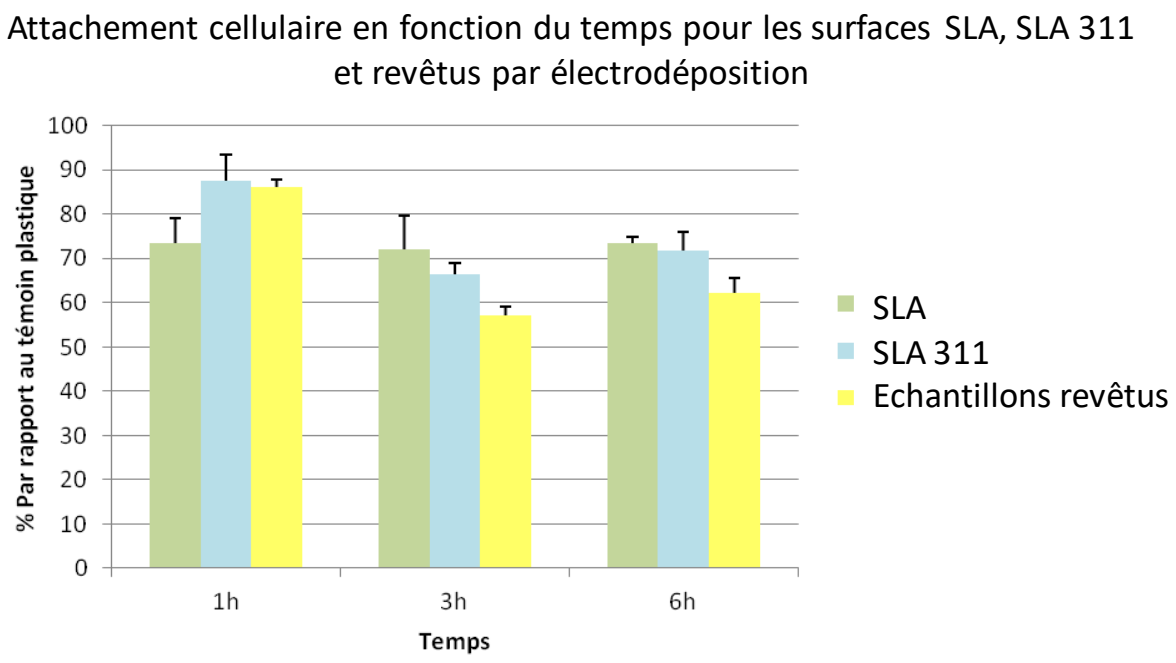


Figure IV-29 : Diagramme représentant le pourcentage d'attachement cellulaire par rapport à un témoin plastique pour les surfaces SLA, SLA 311 et revêtues par électrodéposition pendant un temps de 1 minute

Pour conclure cette étude sur l'élaboration d'un revêtement de CaP par le procédé d'électrodéposition, les paramètres retenus permettant de répondre au cahier des charges de ce travail de thèse consiste en l'utilisation d'une solution électrolytique dont la concentration en calcium est de 0,0420 M et de 0,0252 M pour le phosphate afin de conserver un rapport Ca/P de l'électrolyte égal à 1,67. L'électrolyte est maintenu à 60 °C avec une agitation de 270 rpm et un potentiel de -1,6 V/ECS est appliqué durant 1 minute. Le revêtement obtenu ne modifie pas la rugosité du substrat, toujours comprise entre 1 et 2 µm. La surface revêtue présente une mouillabilité élevée, le revêtement possède une épaisseur comprise entre 1 et 2 µm et est adhérent au substrat. Ce revêtement est biphasé et composé de cristaux de DCPD sur un « tapis » d'OCP. Il devrait alors favoriser l'ostéointégration des implants mais des tests *in vitro* et *in vivo* complémentaires sont nécessaires. Pour la suite de ce travail, le support multi-échantillons décrit précédemment, démontrant l'aspect industrialisable de ce procédé, sera utilisé afin de produire un nombre plus important d'échantillons pour l'étude du dopage des revêtements de CaP par des ions antibactériens.

Chapitre V

Dopage du revêtement de phosphate de calcium avec un agent antibactérien sous forme ionique

Afin de lutter contre les infections post-opératoires et principalement la péri-implantite, l'incorporation d'un agent antibactérien dans le revêtement de CaP a été étudiée. Pour cela, le choix s'est porté sur des ions ayant des propriétés antibactériennes à savoir l'argent, le cuivre et le zinc comme décrit dans le Chapitre I [124]. Ces agents cationiques sont en effet capables de substituer une partie des ions calcium composant le revêtement mis en place sur l'implant. Le but ici est de définir premièrement un protocole permettant l'ajout de ces éléments antibactériens dans les revêtements puis d'étudier l'influence de ceux-ci sur la composition et la microstructure du revêtement. Enfin, les propriétés biologiques des échantillons dopés ont été évaluées et en particulier l'effet du revêtement dopé sur le développement d'un modèle de biofilm à base de plusieurs souches bactériennes d'intérêt pour une application en milieu buccal.

Des sels de nitrates des ions antibactériens d'intérêt pour cette étude sont utilisés car ils possèdent une bonne solubilité dans l'eau ce qui a permis de les dissoudre facilement et d'obtenir des solutions aqueuses de ces sels qui ont été mises en œuvre soit lors des procédés de revêtement étudiés soit en post-traitement des revêtements. Les sels suivants ont été utilisés :

- $Cu(NO_3)_2$, $2,5H_2O$, ACS 98-102%; solubilité de 1378 g/L d'eau à 20 °C [191] ;
- $Zn(NO_3)_2$, $6H_2O$, 99%; solubilité de 1800 g/L d'eau à 20 °C [192] ;
- $AgNO_3$, ACS 99,9% ; solubilité de 1220 g/L d'eau à 0 °C [193].

V-1. Dopage direct lors du procédé de revêtement par immersions successives

V-1-1 Protocole de dopage

Dans le procédé de revêtement par immersions successives présenté dans le Chapitre II, une partie du calcium présent dans le second bain d'immersion peut être remplacé par l'agent antibactérien sous forme cationique, comme décrit sur la Figure V-1.

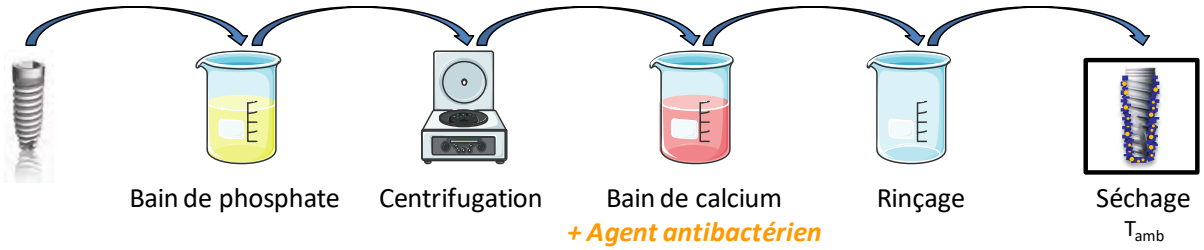


Figure V-1 : Schéma du principe de dopage en élément antibactérien dans le procédé de revêtement par immersions successives

Plusieurs problèmes expérimentaux ont été rencontrés ici.

Premièrement, lors de l'ajout du KOH dans la solution de calcium contenant l'agent antibactérien afin d'augmenter le pH à une valeur de 10, un précipité se forme. En effet, les agents antibactériens forment, en présence d'ions OH^-, des hydroxydes tels que $Cu(OH)_2$, $Zn(OH)_2$ et AgOH identifiés par DRX (résultats non présentés). Ces derniers sont très peu solubles dans l'eau car leurs produits de solubilité Ks sont égaux à $2\ 10^{-19}$, $5\ 10^{-17}$ et $2\ 10^{-8}$ respectivement [194], [195].
Aussi, l'ajout d'ions argent dans la solution cationique mène à la formation d'un précipité identifié comme de l'AgCl par DRX (résultat non présenté) car l'argent réagit avec les ions chlorure provenant du sel de calcium utilisé dans le bain ($CaCl_2$,$4H_2O$) et la solubilité de l'AgCl est très faible (Ks = $1{,}8\ 10^{-10}$ [194]).

Enfin, comme précisé dans le Chapitre II, une géométrie différente appelée pion a été utilisée afin de produire les échantillons pour les essais biologiques, nécessitant une surface circulaire et plane, alors que la mise au point du procédé d'immersions successives a été réalisée sur des substrats de type implants et cales. Ce changement de géométrie a entrainé l'observation de revêtement inhomogène et non couvrant.

Toutes ces observations nous ont alors amené à modifier le protocole du procédé de revêtement précédemment développé.

Afin de résoudre les deux premières problématiques présentées précédemment, le sel utilisé comme source de calcium ($CaCl_2$, $4H_2O$) a été remplacé par du nitrate de calcium ($Ca(NO_3)_2$, $4H_2O$) car les ions antibactériens se présentent également sous la forme de nitrate et sont très solubles dans l'eau.

Cela permet alors d'éviter la formation d'AgCl. La solution de KOH utilisée pour ajuster le pH de la solution cationique a été remplacée par de l'ammoniaque permettant ainsi d'augmenter le pH du bain de calcium sans y introduire d'ions OH^- favorisant la formation d'hydroxydes peu solubles. Cependant, cela n'a pas été concluant car l'ammoniaque s'évaporait lors du chauffage à 80°C même dans un pot fermé hermétiquement et des précipités apparaissaient. De plus, cet ajout d'ammoniaque diluait la solution de calcium.

Des essais ont alors été réalisés sans basification du bain de calcium, initialement à pH = 4,5. Les spectres Raman et FTIR de deux revêtements obtenus dans ces conditions (ech 1 et ech 2) ainsi qu'un spectre associé au revêtement de référence (ech ref) comme développé dans le Chapitre III sont présentés sur la Figure V-2 et la Figure V-3. L'échantillon 2 présente des bandes identiques à l'échantillon de référence correspondant aux groupements phosphates entre 1180 et 925 cm^{-1} par spectroscopie FTIR (Figure V-3). De plus, la présence d'une phase apatitique dans ce revêtement, similaire à la référence, est validée par la spectroscopie Raman grâce à la présence de la bande à 962

cm^{-1} correspondant au mode de vibration ν_1 des PO_4 de l'apatite ainsi que celle à 3571 cm^{-1} correspondant à la vibration des OH apatitique (Figure V-2). Il est donc possible de conclure que le revêtement est toujours composé de ns-HAP et ce malgré le fait que le pH du bain de calcium soit légèrement acide. Ceci peut provenir du fait que la solution d'ions phosphate restant en surface de l'échantillon lors de l'immersion de celui-ci dans le bain de calcium contient majoritairement des ions phosphates sous la forme HPO_4^{2-} et PO_4^{3-} car le bain de phosphate est à pH = 12,7.

Néanmoins, les spectres Raman et FTIR des revêtements obtenus présentent des bandes qui ne correspondent pas aux phosphates de calcium. L'échantillon 1 présente en effet des bandes à 724, 1066 et 1384 cm^{-1} sur le spectre Raman correspondant au nitrate de sodium (Figure V-2). Ce résultat est également confirmé par spectroscopie FTIR avec les pics à 1790, 1450 1338 et 834 cm^{-1} attribués à ce même composé (Figure V-3). Les spectres Raman et FTIR indiquent quant à eux la présence de nitrate de calcium sur l'échantillon 2 avec la présence d'une bande à 1051 cm^{-1} sur le spectre Raman (Figure V-2) et à 1419, 1312 et 817 cm^{-1} sur le spectre FTIR de l'échantillon (Figure V-3). Ces nitrates de calcium et de sodium proviennent, d'une part, du sel utilisé dorénavant comme source de calcium pour la synthèse ($Ca(NO_3)_2,4H_2O$) et, d'autre part, de la recombinaison des ions Na^+ provenant de la source de phosphate (Na_3PO_4, $12H_2O$) avec les ions nitrates (NO_3^-). Un nouveau protocole de lavage des échantillons à la fin du procédé d'immersions successives a alors dû être mis au point et sera discuté par la suite dès lors qu'un protocole permettant l'obtention d'un revêtement répétable sera établi.

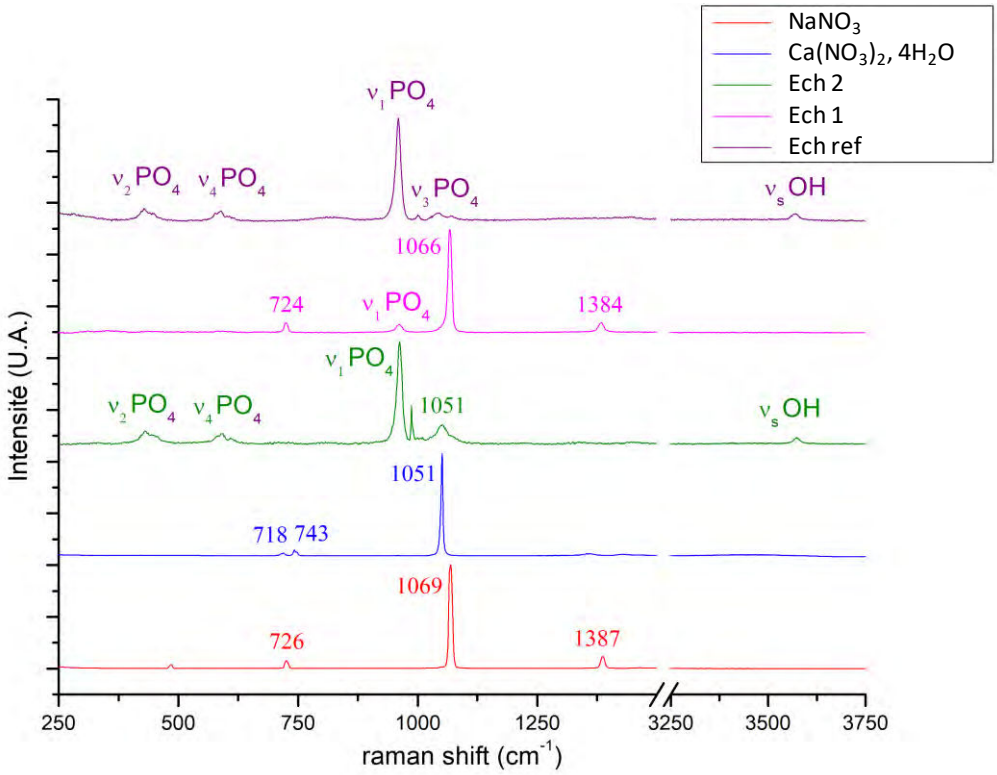


Figure V-2 : Spectres Raman d'un revêtement de référence, de deux revêtements obtenus lors de l'utilisation de nitrate de calcium et des sels de référence de nitrates de sodium et calcium

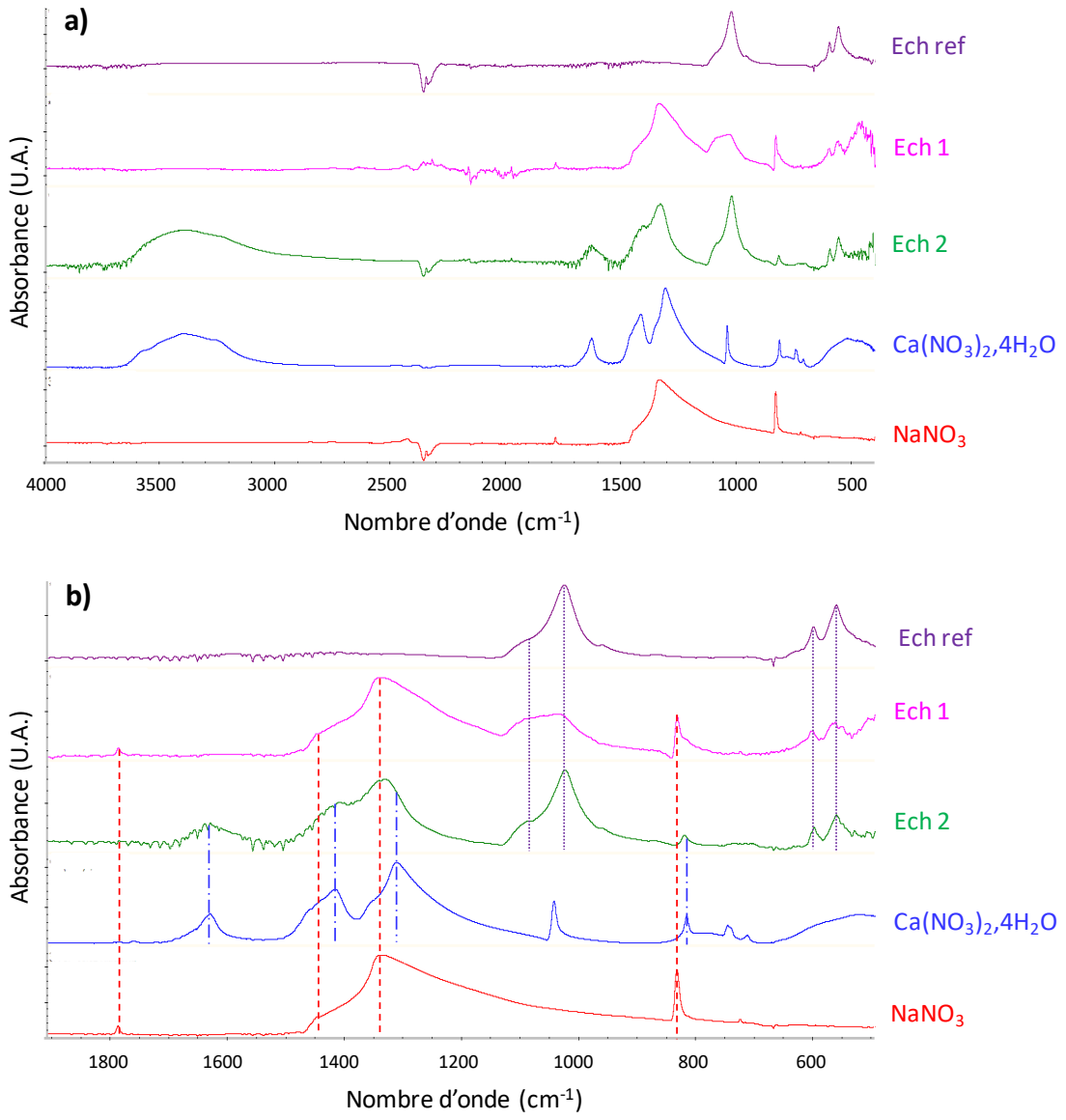


Figure V-3 : Spectres FTIR-ATR d'un revêtement de référence, de deux revêtements obtenus lors de l'utilisation de nitrate de calcium et des sels de référence de nitrates de sodium et calcium

Afin de résoudre la problématique liée à l'observation de revêtements inhomogènes et non couvrants sur les pions, l'étape de centrifugation a encore une fois été étudiée à l'image de ce qui a été décrit dans le Chapitre III dans le but d'obtenir un revêtement sur pion semblable à celui développé sur implants et cales. En ce sens, les paramètres de centrifugation (temps et vitesse) ainsi qu'un nouveau support ont été étudiés. En effet, la surface utile du pion n'est pas exposée de la même manière que celle des cales lors de la centrifugation résultant en un déplacement différent du liquide présent à la surface de ces échantillons. Cela est illustré par la Figure V-4. Pour pallier cela, un nouveau support a été conçu et fabriqué permettant une orientation perpendiculaire des pions par rapport au support classique (Figure V-5).

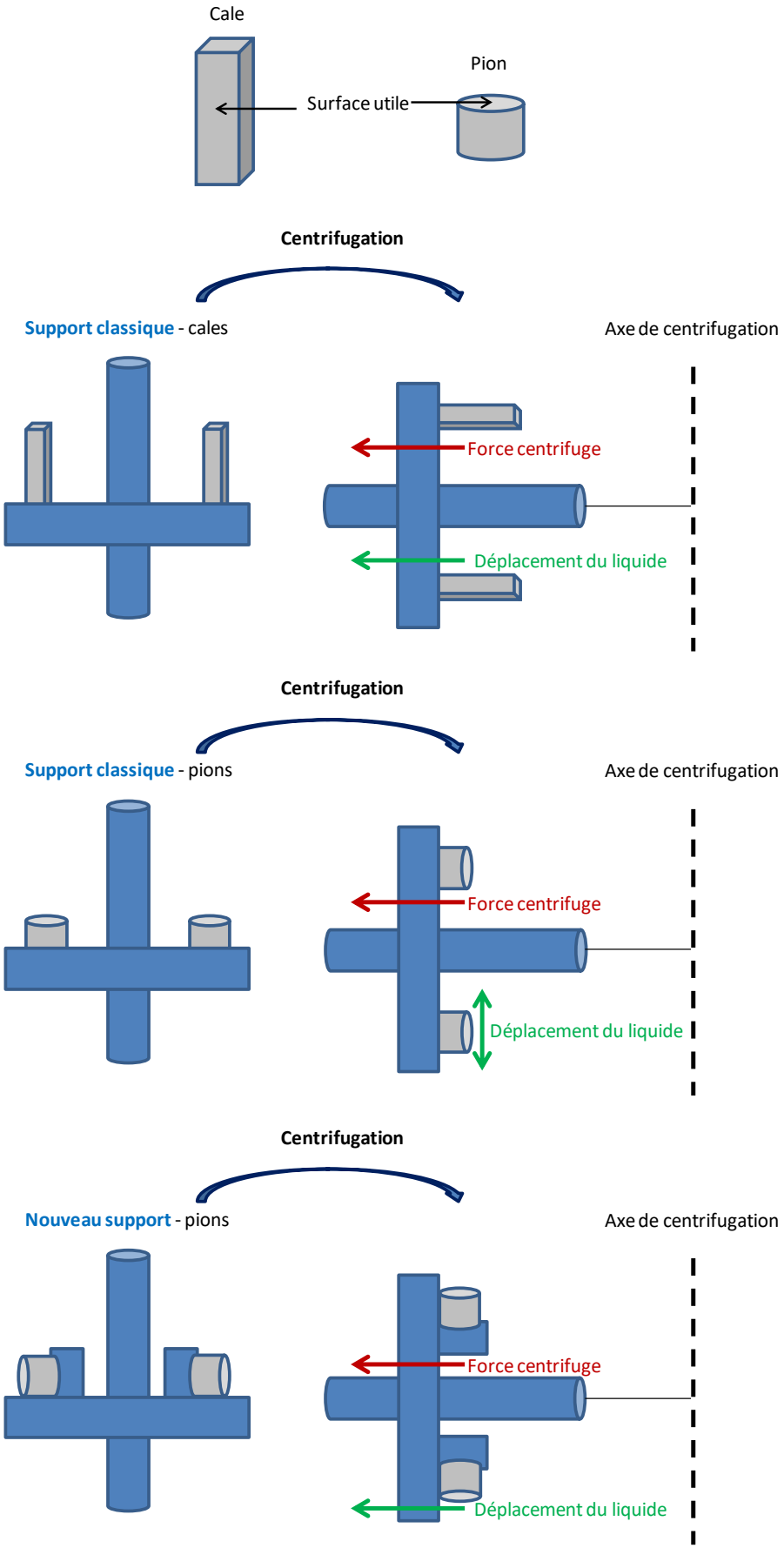


Figure V-4 : Schéma représentant la différence de déplacement du liquide à la surface des cales ou des pions en fonction du support utilisé lors de la centrifugation

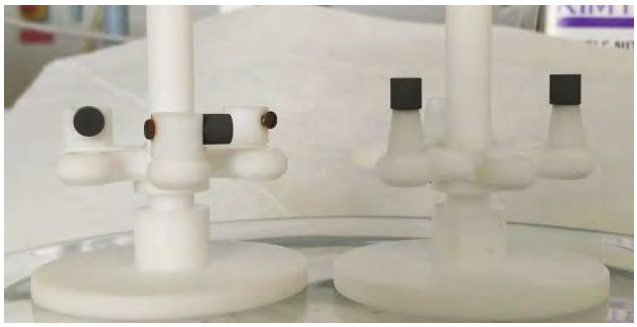


Figure V-5 : Photographies du nouveau support (à gauche) et du support classique (à droite) utilisés lors de la centrifugation des pions

Différentes combinaisons de durée (5, 7 et 10 minutes) et de vitesse de centrifugation (500, 700, 1000 et 1500 rpm) ont ensuite été testées avec les différents supports décrits précédemment et les revêtements formés ont été observés au MEB. Les résultats obtenus avec le support classique et le nouveau support sont présentés dans le Tableau V-1. Les paramètres ne permettant pas la formation d'un revêtement, représenté par la Figure V-6a sont identifiés par des croix rouges dans le Tableau V-1. Ces paramètres ont donc été écartés. Les paramètres pour lesquels un revêtement non couvrant est observé, comme représenté par la Figure V-6b où une partie du substrat de titane est visible, sont représentés par des dièses oranges. Enfin, les revêtements couvrants comme celui présenté à la Figure V-6c correspondent aux points verts dans ce même tableau. Pour les conditions de synthèse menant à des revêtements couvrants, une étude de répétabilité a été menée et les résultats sont présentés en pourcentage également dans le Tableau V-1. Cette valeur représente la fréquence à laquelle tous les échantillons d'un lot (un lot correspond aux échantillons d'une même synthèse, c'est-à-dire 4 pions à revêtir) sont revêtus.

Tableau V-1: Etude paramétrique de l'étape de centrifugation dans le procédé par immersions successives sur les pions avec le support classique et le nouveau support. Présence, homogénéité et répétabilité (indiquée en %) du revêtement sur le substrat en titane en fonction des paramètres de centrifugation (temps et vitesse de rotation) : ● = revêtement recouvrant entièrement la surface; # = revêtement ne recouvrant pas complètement la surface ; X = pas de revêtement ; case vide : paramètres non testés

Support classique				
Temps (min) \ RPM	500	700	1000	1500
5	#	#	● 100%	X
7	#	#	● 80%	
10	● 0 %	● 80%	#	

Nouveau support				
Temps (min) \ RPM	500	700	1000	1500
5	#	X	X	#
7	#	#	#	
10	● 0 %	● 0 %	#	

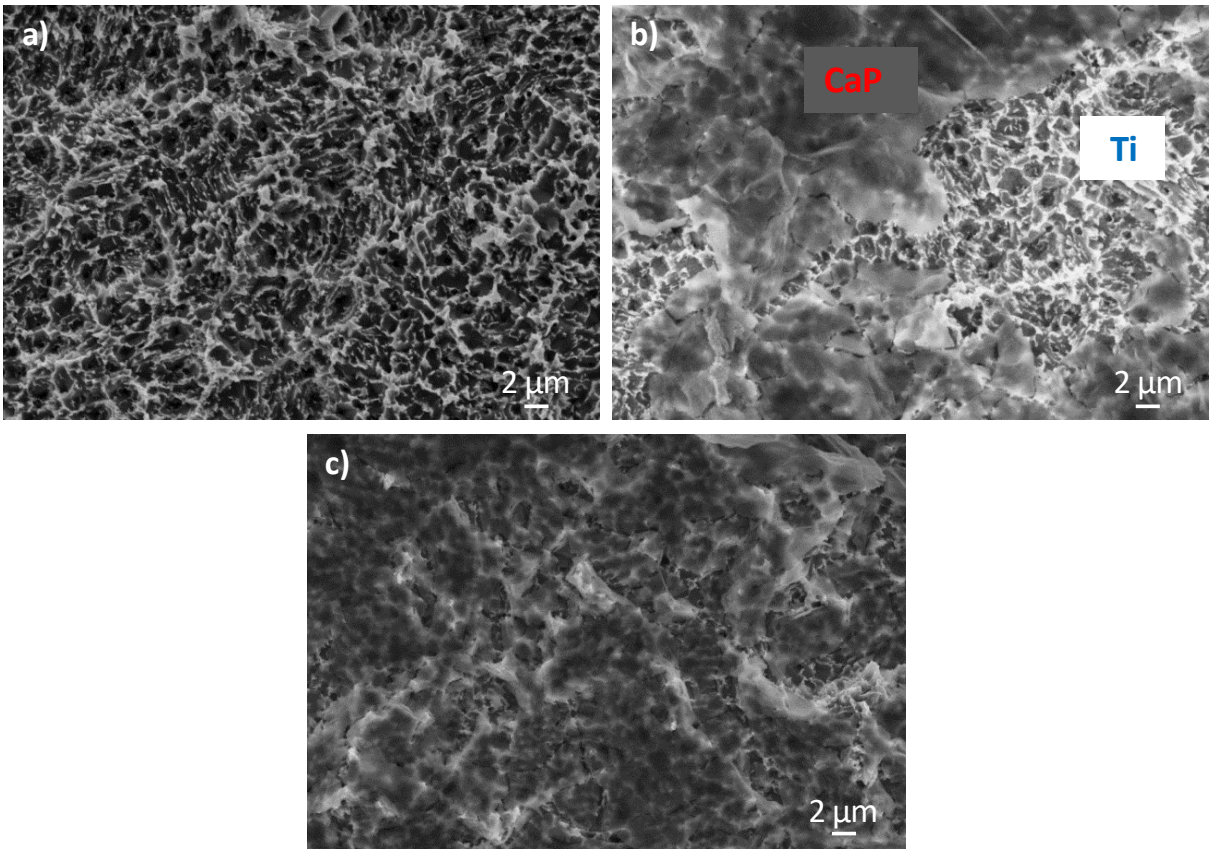


Figure V-6 : Micrographies MEB a) d'une surface non revêtue ; b) d'un revêtement non couvrant; c) d'un revêtement homogène et couvrant

Il est alors possible de noter que le nouveau support conduit à des résultats généralement moins satisfaisants que le support classique. En effet, deux combinaisons permettent d'obtenir un revêtement couvrant avec ce nouveau support contre quatre avec le support classique. Ce nouveau support a donc été écarté.

Pour le support classique, les paramètres de centrifugation conduisant à un revêtement couvrant et répétable (≥ 80 %) sont les suivants : 10 min à 700 rpm et 7 et 10 minutes à 1000 rpm.

La micrographie MEB présentée sur la Figure V-7a rappelle la morphologie du revêtement obtenu sur une cale suite à l'optimisation du protocole du procédé par immersions successives décrit dans le Chapitre III. Il est alors possible d'observer que le revêtement obtenu avec une vitesse de centrifugation de 700 rpm et un temps de 10 minutes (Figure V-7b) a la morphologie la plus proche du revêtement de référence (sur cale) alors que la rugosité est encore très visible pour les deux revêtements obtenus avec une vitesse de centrifugation de 1000 rpm (Figure V-7c et d), pouvant laisser supposer que le revêtement est plus fin. C'est la raison pour laquelle le choix des paramètres de centrifugation s'est porté sur le couple 700 rpm / 10 minutes lorsque le procédé par immersions successives doit être réalisé sur des pions pour la production d'échantillons pour les essais

biologiques. Ces paramètres ont donc été utilisés afin de mettre en place le revêtement antibactérien dans la suite de ce travail.

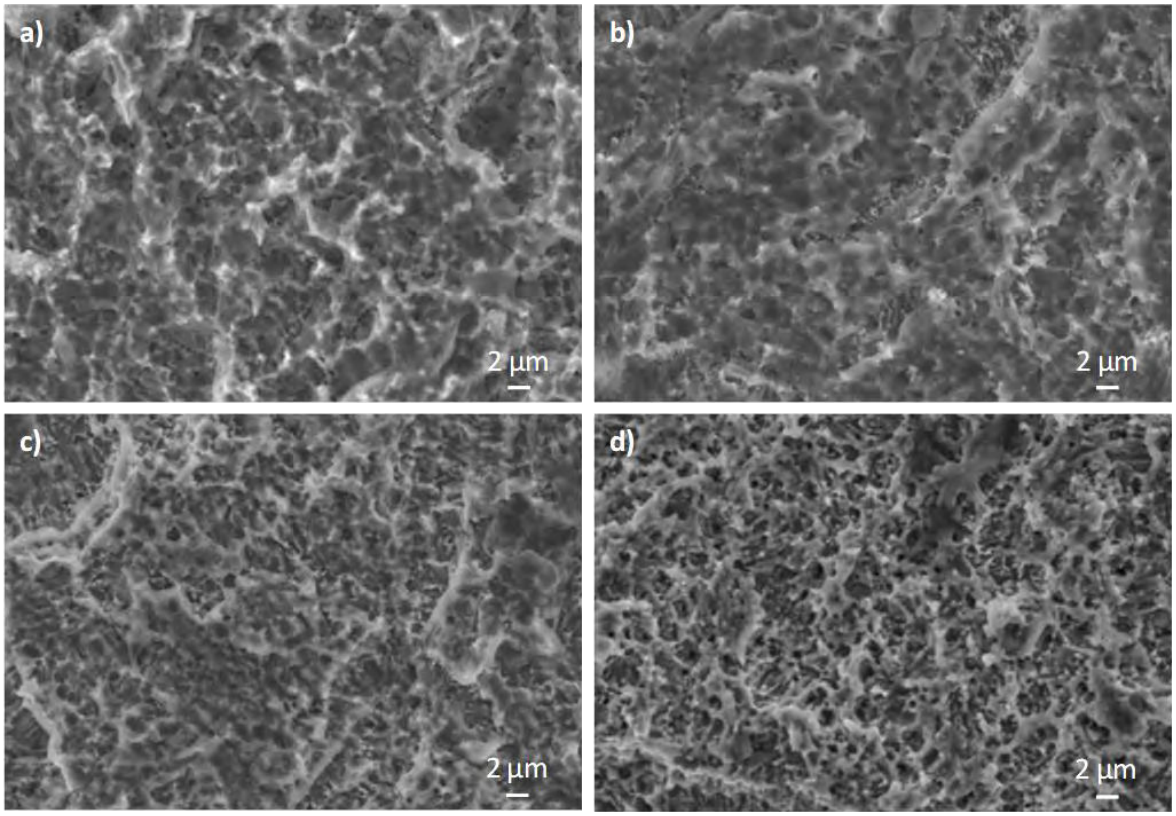


Figure V-7 : Micrographies MEB : a) Revêtement de référence obtenu sur cale d'après le protocole établi dans le chapitre III ; b) Revêtement sur pion avec les paramètres 700 rpm, 10 min ; c) Revêtement sur pion avec les paramètres 1000 rpm, 5 min et d) Revêtement sur pion avec les paramètres 1000 rpm, 7 min

A la suite de l'obtention d'un revêtement reproductible, un nouveau protocole de lavage a dû être mis en place à la suite de l'identification de nitrates de calcium et de sodium présents dans le revêtement, comme présenté précédemment (Figure V-3 et Figure V-2). Pour cela différents essais ont été menés sur le nombre de bains de lavage réalisés, le temps d'immersions dans ces bains ainsi que l'agitation de ces derniers. Le Tableau V-2 rassemble tous les protocoles testés. Dans le protocole initial (Protocole 0), les échantillons sont lavés 1 min avec une forte agitation, puis 60 min sans agitation. Le problème de cette immersion pendant un temps long est que le revêtement pourrait se dissoudre et qu'une partie des ions antibactériens que l'on souhaite incorporer dans le revêtement pourrait être libérée dans la solution de lavage et ne plus être associée au revêtement une fois séché. Pour pallier ce problème, nous avons donc multiplié les bains et allongé les durées d'immersion progressivement en ne dépassant pas 30 minutes de temps total d'immersion (Protocoles 1 à 4). Nous n'avons noté aucune amélioration significative : en effet, des nitrates ont été détectés sur au moins 50 % des échantillons d'un lot et le lavage est non-répétable entre les lots. Les nitrates de calcium et de sodium devraient pourtant se dissoudre facilement car leur solubilité est

assez élevée dans l'eau à savoir 129 et 88 grammes pour 100 grammes d'eau respectivement [196]. De plus, nous avons réalisé des revêtements de nitrates de calcium ou de sodium en immergeant les échantillons dans des bains contenant ces espèces dissoutes, en les centrifugeant et en les laissant sécher. Nous avons pu voir que trois bains de lavage de 1 minute sous une agitation de 120 rpm permettaient de dissoudre les revêtements de nitrate de sodium ou de calcium lorsqu'ils ne sont pas associés au revêtement de CaP. L'hypothèse avancée est que les nitrates sont piégés dans le revêtement de CaP ou entre le substrat et le revêtement et que l'eau a donc du mal à les éliminer par dissolution par immersion.

Tableau V-2 : Résumé des protocoles de lavage testés

	Protocole 0	Protocole 1	Protocole 2	Protocole 3	Protocole 4	Protocole 5
0 rpm	1 x 60 min					1x 30 min
120 rpm					1 x 30 min	
600 rpm	1 x 1 min	3 x 1 min	3 x 5 min	3 x 10 min		3 x 30 s'

Ces cinq protocoles n'ayant pas été concluants, un lavage à l'eau courante déminéralisée a alors été mis en place. Celui-ci, d'une durée de 3 min, se fait avec les pions orientés vers le bas afin que l'eau ruisselle sur les échantillons et n'abime donc pas le revêtement. Cette méthode permet d'éliminer les nitrates mais n'est pas très répétable car un échantillon est généralement contaminé alors que les autres ne le sont pas au sein d'un même lot. De plus, cette technique ne peut pas être implémentée dans l'entreprise. Une étude complémentaire devra alors être menée quant au protocole de lavage des échantillons de type pions revêtus par le procédé d'immersions successives.

V-1-2 Caractérisation des revêtements dopés

Une fois les modifications apportées au protocole d'immersions successives visant à réaliser les revêtements de CaP sur des pions et en y ajoutant des ions antibactériens, l'étude des revêtements dopés a pu être réalisée. Comme explicité précédemment et décrit par le schéma de la Figure V-1, le dopage est réalisé en substituant une partie des ions calcium du second bain par des ions argent, cuivre ou zinc.

Il a pu être constaté dans la littérature que l'argent s'incorpore en quantité moins importante que le cuivre et le zinc lors de la synthèse de poudres d'apatite par co-précipitation [166]. En prenant cela en compte, trois taux de substitution du calcium pour chaque agent antibactérien dans la solution cationique ont été choisis (% molaire) :

- Ag : 0,5% ; 2 % ; 5%
- Zn : 0,1 % ; 0,5% ; 1%
- Cu : 0,1 % ; 0,5% ; 1%

La topographie des revêtements obtenus a dans un premier temps été observée au MEB afin de vérifier que les revêtements étaient couvrants et homogènes. Ensuite, la composition chimique du revêtement a été caractérisée par spectroscopie FTIR afin de valider le fait qu'un revêtement de CaP soit toujours présent. Enfin, la concentration en agent antibactérien contenu dans le revêtement a été dosée par spectrométrie d'absorption atomique.

Dopage à l'argent :

Les revêtements obtenus lors du dopage avec les ions argent sont différents selon la proportion d'ions argent introduite dans la solution cationique. En effet, l'échantillon obtenu avec 2 % d'argent ayant substitué le calcium dans la solution cationique est correctement revêtu (Figure V-8b) alors que la rugosité du substrat est visible pour un dopage à 0,5 % d'argent (Figure V-8a) et des parties du substrat sont clairement visibles pour un dopage à 5 % (Figure V-8c). Cette variabilité des résultats en fonction du taux d'argent en solution peut provenir du procédé en soit ou bien du fait de l'incorporation de l'argent qui joue un rôle sur la formation du revêtement.

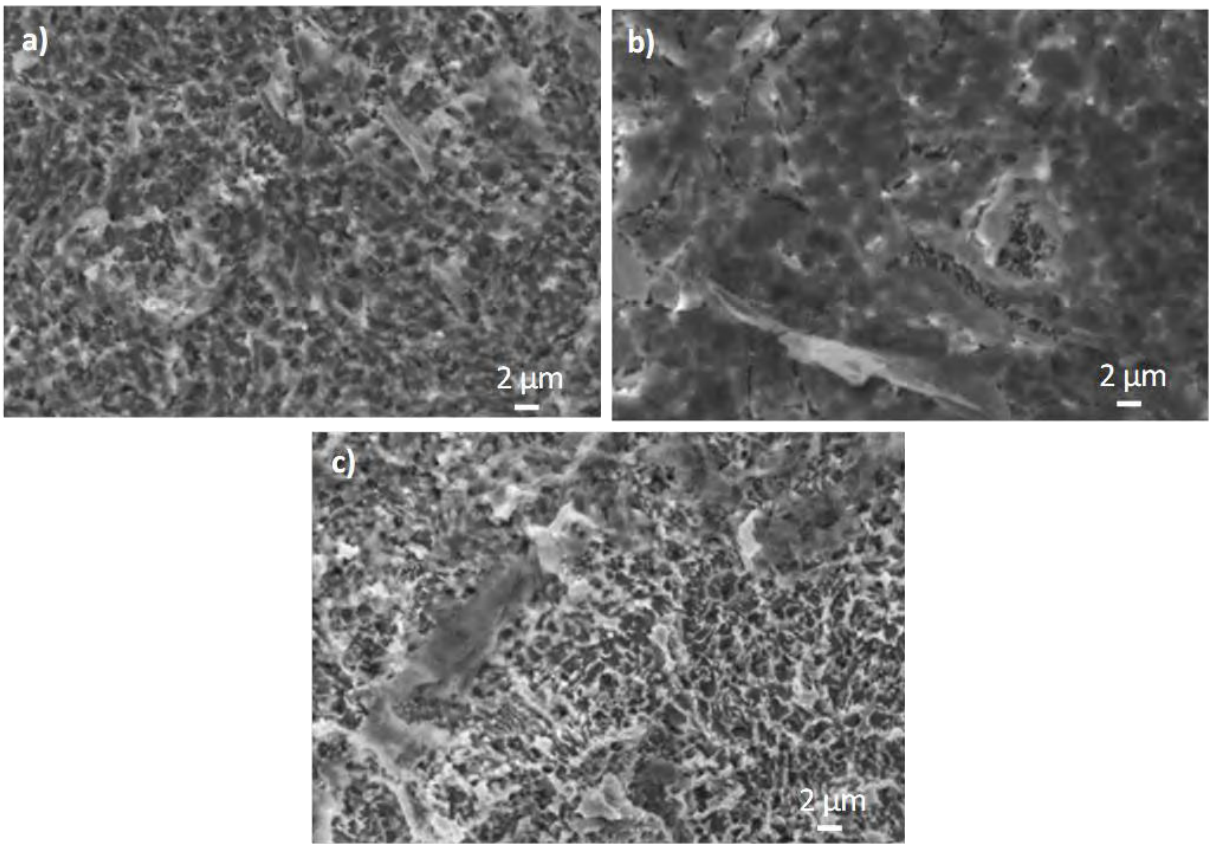


Figure V-8 : Micrographies MEB des échantillons revêtus et dopés à l'argent : a) 0,5 % ; b) 2 % et c) 5 % d'argent par rapport au calcium dans la solution cationique

Il faut noter que les spectres obtenus par spectroscopie FTIR des échantillons dopés sont proches de celui de l'échantillon non dopé de référence (Figure V-9). L'épaulement entre 1050 et 1100 cm^{-1} semble néanmoins différent de la référence pour Ag 2% et 5%. Il est difficile de conclure sur la seule base de cette analyse en mode ATR utilisé dans cette étude mais nous pouvons supposer qu'aucune autre phase hormis les CaP n'a été créée lors du dopage.

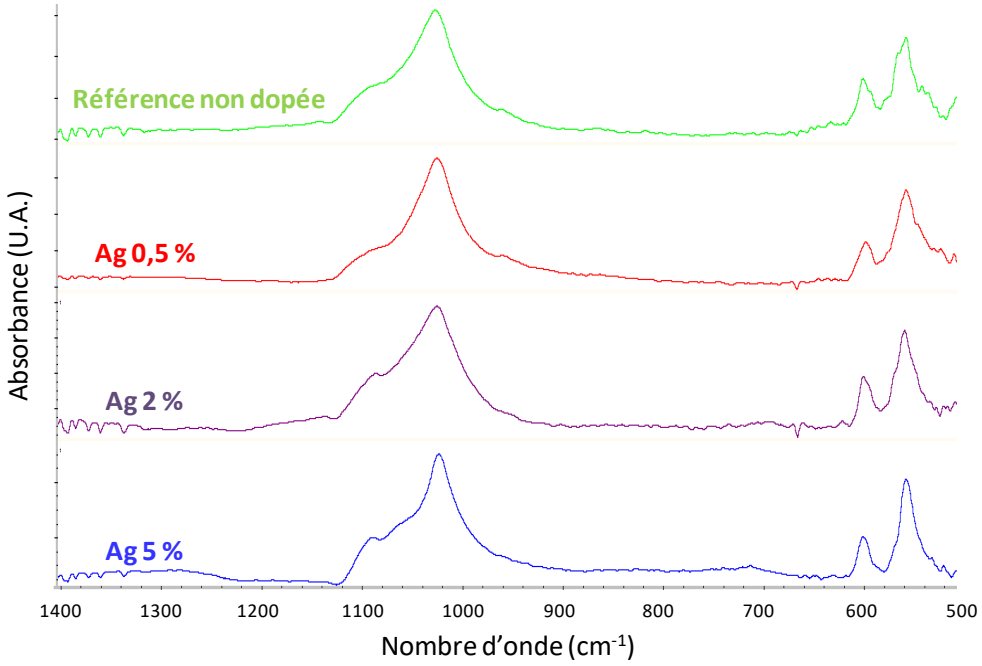


Figure V-9 : Spectres FTIR-ATR des échantillons dopés à l'argent à partir de solutions à 0,5, 2 et 5 % d'argent par rapport au calcium en comparaison avec un échantillon revêtu non dopé

Même si les revêtements obtenus ne sont pas couvrants, il est tout de même intéressant de doser la quantité d'agent antibactérien incorporé dans celui-ci. Pour cela le calcium ainsi que l'argent ont été dosé par spectrométrie d'absorption atomique. Ce même protocole sera suivi dans le cas des dopages au cuivre et au zinc étudiés par la suite. Brièvement les pions revêtus, dopés et non dopés, sont plongés dans 3 mL d'acide nitrique à 0,06 M pendant 30 minutes aux ultrasons afin de permettre la dissolution du revêtement. Ils sont ensuite lavés durant 5 minutes à l'eau et aux ultrasons afin de s'assurer de la récupération de toute la solution contenant les ions constituant le revêtement. La solution obtenue est ensuite dosée et la quantité d'ions antibactériens incorporée est calculée en faisant le rapport entre la concentration en ions antibactériens et la concentration totale en cations ; on peut alors écrire, avec M l'élément métallique antibactérien :

$$\%\ M\ (\text{molaire}) = \left(\frac{[M]}{[M]+[Ca]}\right) x100$$

La Figure V-10 présente le pourcentage d'argent incorporé dans le revêtement par rapport aux cations totaux en fonction du pourcentage de substitution des ions calcium dans le bain de calcium utilisé lors du procédé de revêtement par immersions successives. Il peut être observé une tendance montrant que plus il y a d'argent dans le bain de calcium, plus l'argent est incorporé malgré le fait que les taux d'incorporation avec 0,5 % et 2 % d'argent semblent proches. Il faut cependant noter que les écart-types associés aux mesures sont élevés car les échantillons sont très peu concentrés en argent et donc la limite de détection de l'appareil est atteinte. Nous retrouvons également les résultats de la littérature suivant lesquels tout l'argent introduit dans la solution n'est pas incorporé. Pour une concentration finale souhaitée dans le revêtement il faut donc mettre une concentration plus importante dans le bain de calcium.

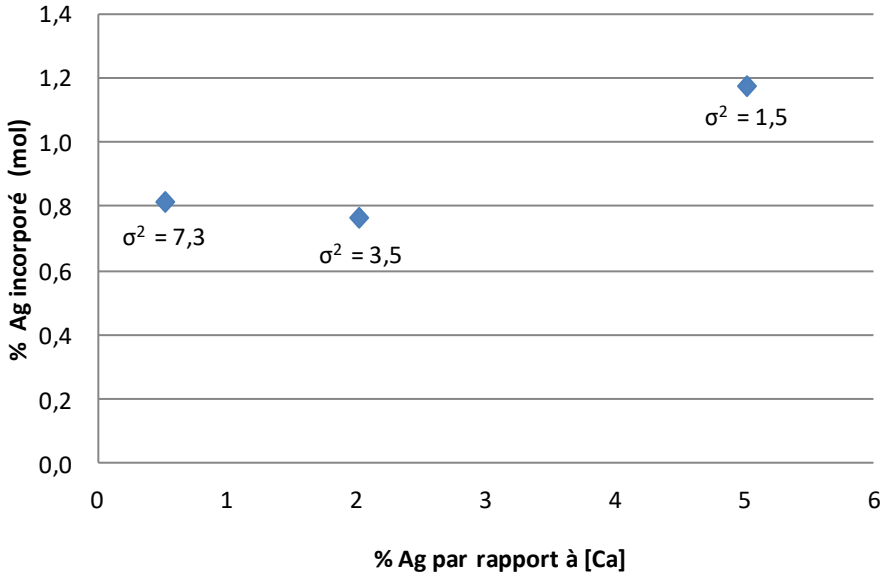


Figure V-10 : Pourcentage d'argent incorporé dans le revêtement par rapport aux cations totaux en fonction du pourcentage d'ions argent substitué aux ions calcium dans le bain initial (les écart-types sont présentés sous forme de nombre afin de ne pas encombrer le graphique)

Dopage au cuivre :

Les revêtements obtenus par dopage au cuivre sont plus couvrants que pour le dopage à l'argent. En effet, aucune zone sans revêtement n'est observée et l'épaisseur du revêtement semble plus importante que pour la référence non dopée car la rugosité du substrat n'est plus visible (Figure V-11). Il faut cependant noter l'apparition d'aiguilles lors du dopage à 1 %. Cette nouvelle morphologie pourrait être reliée à une nouvelle phase formée en présence de cuivre.

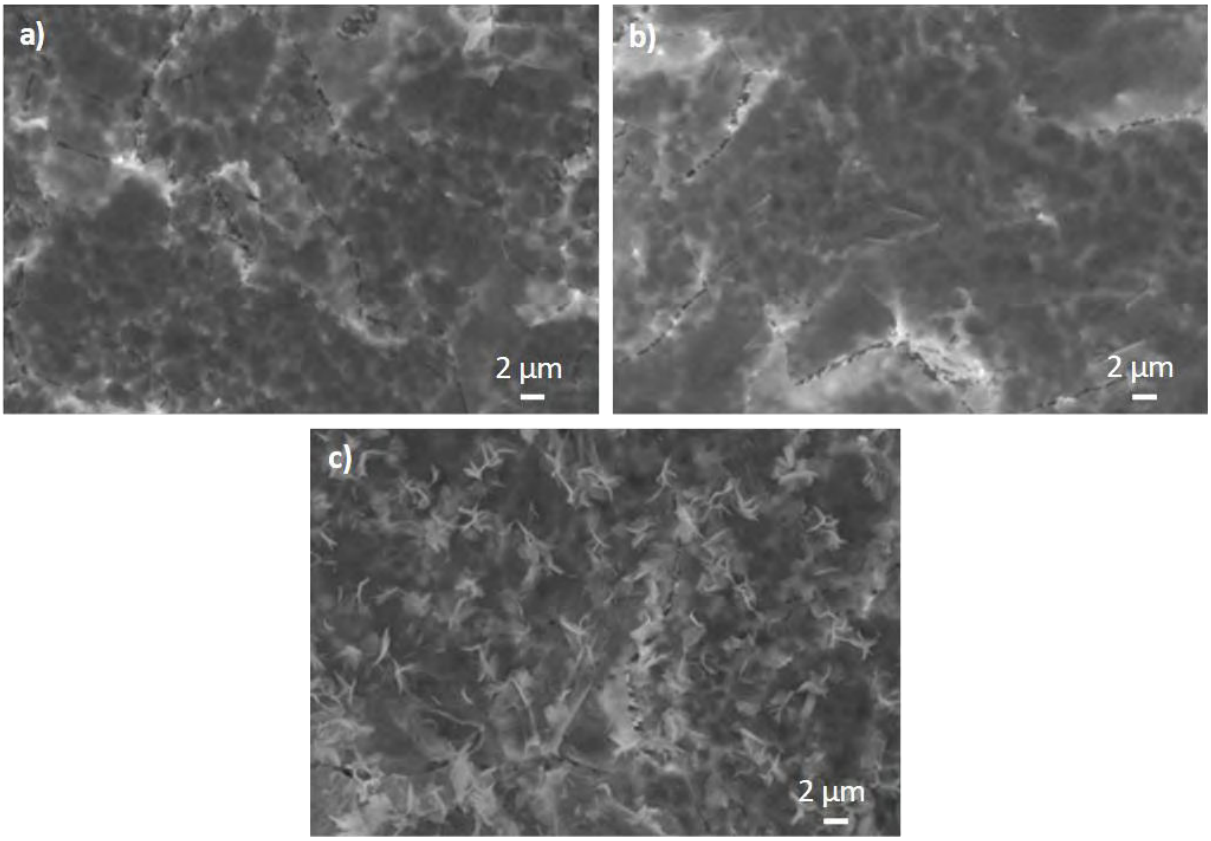


Figure V-11 : Micrographies MEB des échantillons revêtus et dopés au cuivre : a) 0,1 % ; b) 0,5 % et c) 1 % de cuivre par rapport au calcium dans la solution cationique

La spectroscopie infrarouge n'a pas révélé de changement de phases particulier pour les concentrations les plus basses de 0,1% et 0,5% (Figure V-12). Cependant deux bandes intenses à 995 et 1050 cm^{-1} ainsi que trois bandes de plus faible intensité à 1080, 965 et 625 cm^{-1} sont observées sur le spectre du revêtement dopé avec 1 % de cuivre. Ceci permet de corroborer notre hypothèse selon laquelle la nouvelle morphologie observée au MEB est une nouvelle phase. Une hypothèse peut être formulée quant à la formation de phosphate de cuivre. *Braithwaite et Ryback* décrivent des bandes de la ludjibaite ($(Cu_5(PO_4)_2(OH)_4)$ à 1040, 997 et 970 cm^{-1} correspondant aux modes de vibration v_1 et v_3 des PO_4 et à 627 et 546 cm^{-1} assimilables au mode de vibration v_4 des PO_4 [197]. *Martens et Frost*, quant à eux, décrivent ces mêmes bandes à 1041, 999, 970, 635 et 551 cm^{-1} [198]. Il serait donc possible que cette nouvelle phase observée soit un phosphate de cuivre.

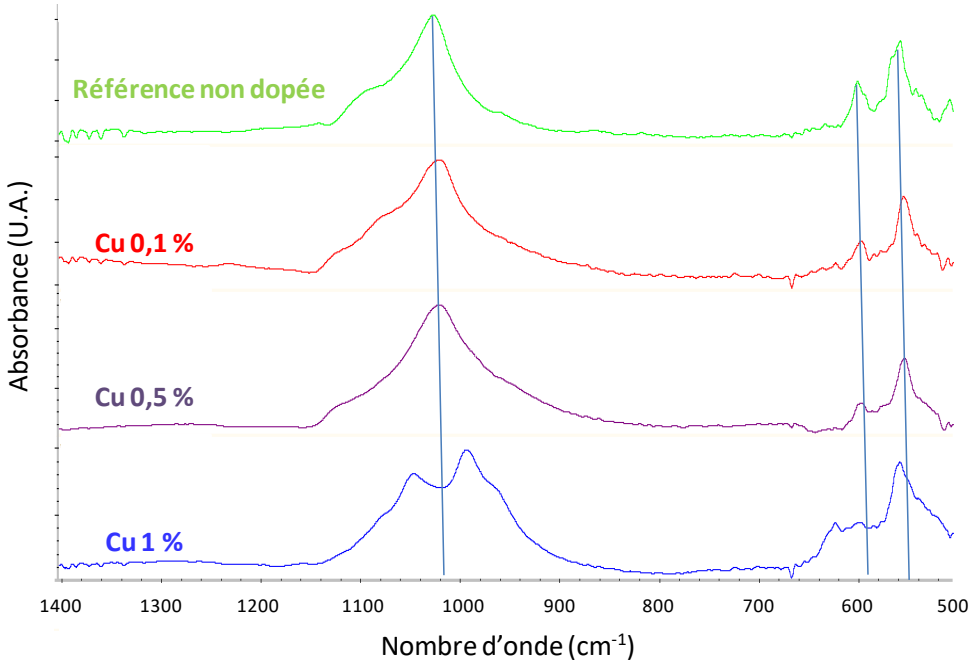


Figure V-12 : Spectres FTIR-ATR des échantillons dopés au cuivre à partir de solutions à 0,1 ; 0,5 et 1 % de cuivre par rapport au calcium en comparaison avec un échantillon non dopé

Le dosage des éléments composants les revêtements dopés au cuivre a montré encore une fois que la concentration de cuivre incorporée dans le revêtement augmente avec la concentration en cuivre initialement dans le bain de calcium (Figure V-13). Cependant, il faut noter que contrairement à l'argent, des taux élevés d'incorporation sont atteints : allant de 26% pour une substitution de 0,1% du calcium à 48 % pour une substitution de 1%.

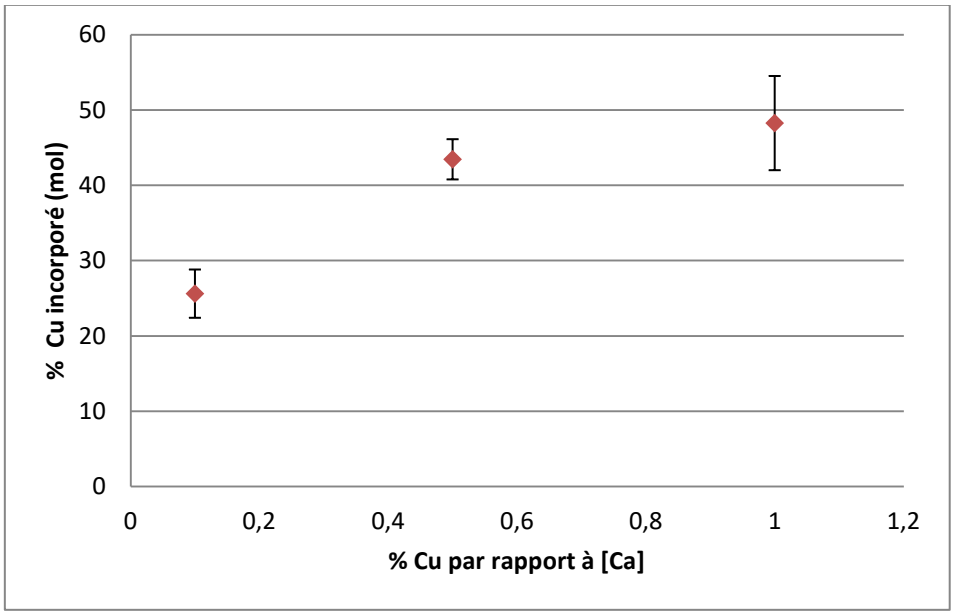


Figure V-13 : Pourcentage de cuivre incorporé dans le revêtement par rapport aux cations totaux en fonction du pourcentage d'ions cuivre substitué aux ions calcium dans le bain initial

Dopage au zinc :

Les échantillons obtenus avec une substitution du calcium de 0,1 et 1 % sont couvrants et semblent plus épais que la référence non dopée car la rugosité du substrat n'est plus visible (Figure V-14a et c) alors que celui obtenu pour une substitution de 0,5 % présente des portions de surface non recouvertes (Figure V-14b).

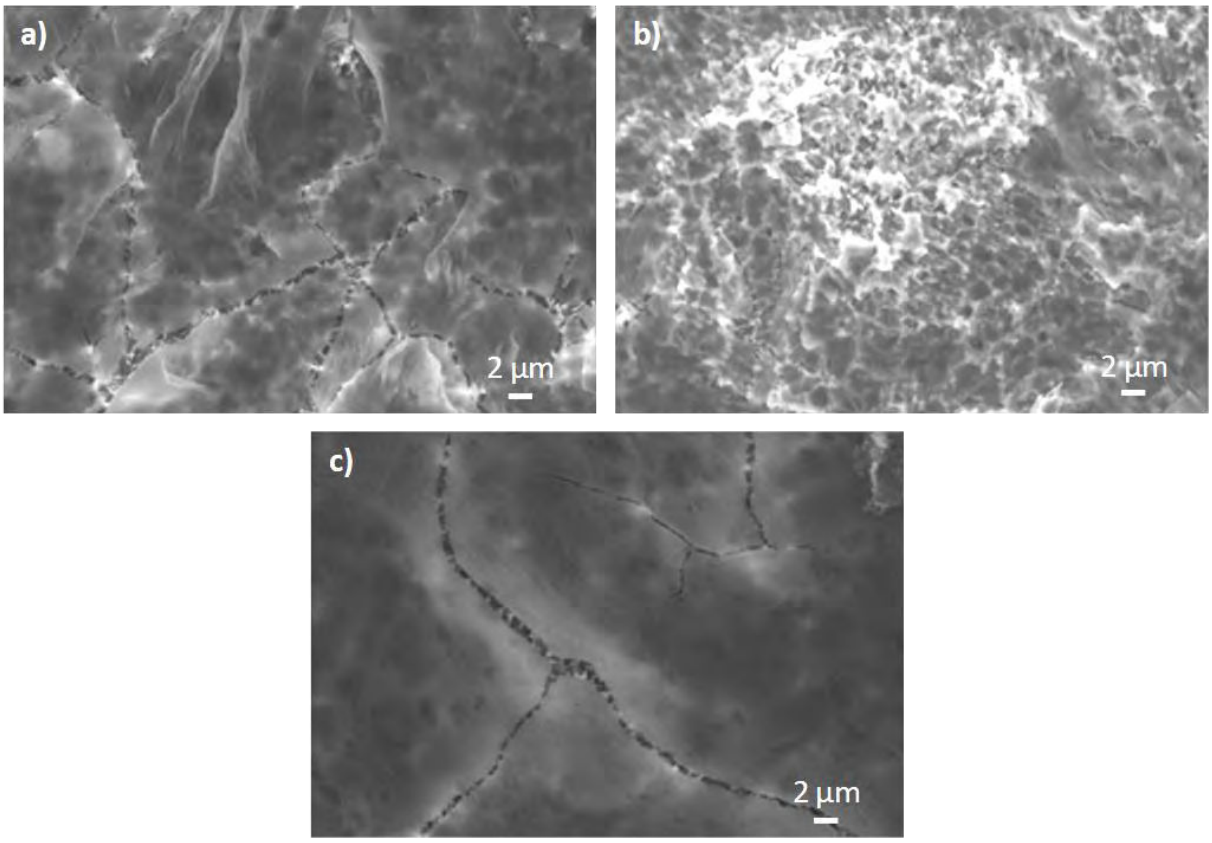


Figure V-14 : Micrographies MEB des échantillons revêtus et dopés au zinc : a) 0,1 % ; b) 0,5 % et c) 1 % de zinc par rapport au calcium dans la solution cationique

Les revêtements dopés au zinc sont toujours composés de CaP. Il est néanmoins possible de noter un élargissement de la bande à 1030 cm^{-1} pour les revêtements obtenus avec des taux de substitution en zinc de 0,5 % et 1 % (Figure V-15). Aussi, la bande à 603 cm^{-1} est moins bien résolue et finie par apparaitre comme un épaulement pour l'échantillon dopé avec 1% de zinc. Ceci peut indiquer que les revêtements de CaP obtenus avec des taux de dopage élevés en zinc sont moins bien cristallisés que celui de référence non dopé.

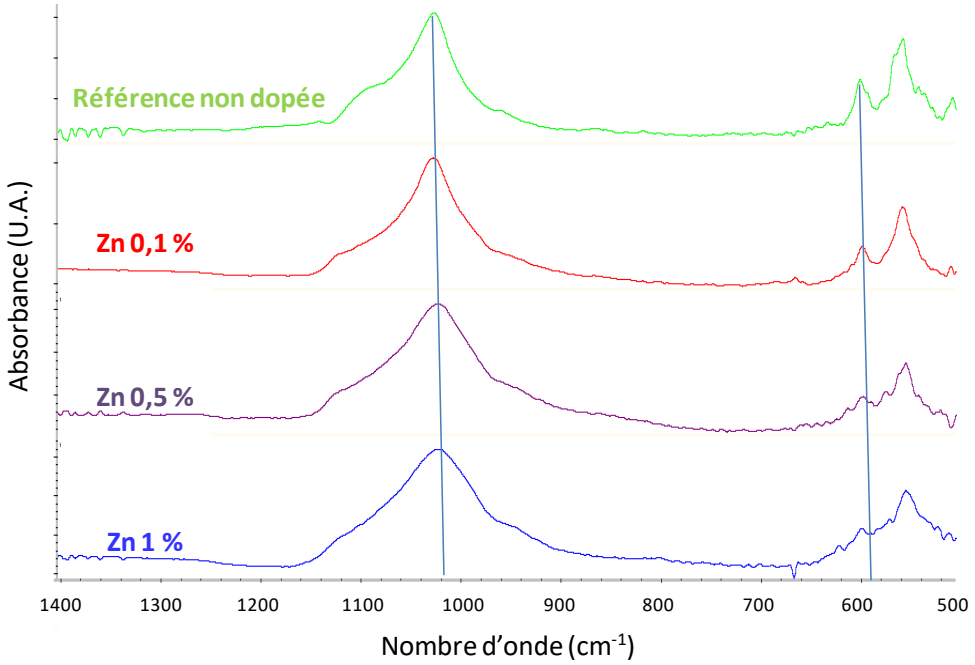


Figure V-15 : Spectres FTIR-ATR des échantillons dopés au zinc à partir de solutions à 0,1 ; 0,5 et 1 % de zinc par rapport au calcium en comparaison avec un échantillon non dopé

A l'instar du dopage au cuivre, des taux d'incorporation élevés sont également observés lors du dopage à l'aide du zinc : 18 % incorporé pour une substitution du calcium de 0,1 % et jusqu'à 42 % pour une substitution de 1 %. Cependant, cette incorporation semble linéaire comme le montre la Figure V-16 alors que ce phénomène n'a pas été observé pour le cuivre.

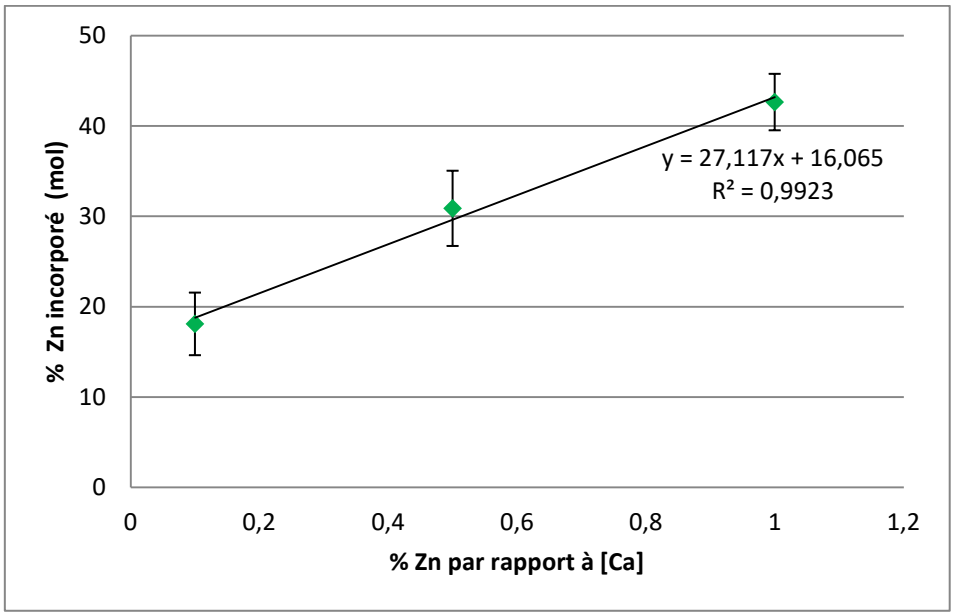


Figure V-16 : Courbe de tendance représentant le pourcentage de zinc incorporé dans le revêtement par rapport aux cations totaux en fonction du pourcentage d'ions zinc substitué aux ions calcium dans le bain initial

Pour résumer : il est possible d'observer que le dopage à l'argent ne semble pas modifier le revêtement alors qu'un dopage avec des concentrations élevées en cuivre conduisent à la formation d'une nouvelle phase, vraisemblablement de phosphate de cuivre. Le zinc, quant à lui, semble avoir un effet sur la cristallinité du revêtement (bande d'absorption infrarouge moins bien résolues). Cela devrait être confirmé par DRX mais il n'a pas été possible de réaliser cette analyse dans le cas de cette étude à cause de la faible réponse de cette technique de caractérisation vis-à-vis des revêtements fins élaborés sur des substrats rugueux (cf. Chapitre III). Ce résultat est en accord avec la littérature décrivant le zinc comme un inhibiteur de croissance cristalline [144], [166].

Concernant le taux d'incorporation, il est intéressant de noter qu'une quantité plus faible d'argent est incorporée par rapport à celle introduite dans la solution. *A contrario*, pour le cuivre et le zinc la quantité incorporée est plus importante que celle introduite dans la solution par rapport au calcium. Une précédente étude menée au sein du laboratoire concernant la co-précipitation d'apatites nanocristallines dopées à l'aide de ces trois ions a également montré que la quantité d'argent incorporé était nettement inférieure à celle introduite dans la solution de calcium mais que les mêmes concentrations étaient retrouvées pour le cuivre et le zinc [166]. Dans notre cas, tous les ions calcium et antibactériens présents dans le second bain ne réagissent pas forcément afin de former le revêtement de CaP permettant ainsi d'expliquer la différence de résultat entre ces deux études. Il faut néanmoins noter que les dosages réalisés lors de notre étude ont été effectués qu'une seule fois pour des questions de temps et n'ayant pas des revêtements optimaux (non couvrants).

De plus, aucune seconde phase n'est observée pour des faibles concentrations en dopants. Ce résultat devrait être confirmé par des techniques de caractérisations complémentaires compte tenu des taux élevés de dopage obtenus. La DRX pourrait facilement permettre de conclure sur ce point mais ne peut pas être mise en œuvre dans cette étude pour les raisons citées précédemment.

Des analyses complémentaires sont donc nécessaires afin d'essayer d'élucider les mécanismes, probablement complexes, qui ont lieu au cours des processus de précipitation impliqués lors de ce procédé de revêtement par immersions successives.

V-2. Dopage par échange ionique post revêtement obtenu après électrodéposition

Une étude préliminaire concernant la réalisation de revêtements antibactériens élaborés par électrodéposition a été menée lors d'un séjour de 2 mois à l'*Institute of Topical Technology* (ITT) à Hanoï (Vietnam) dans le cadre du Laboratoire International Associé FOCOMAT. Cet échange a été soutenu par Toulouse INP grâce à une bourse de Soutien à la Mobilité Internationale (SMI).

V-2-1 Protocole de dopage

Pour le procédé d'électrodéposition, l'incorporation directe de l'ion antibactérien n'est pas possible et nécessite donc un post-traitement. En effet, les potentiels d'oxydoréduction des ions argent, zinc et cuivre, respectivement égaux à 0,8 V, - 0,76 V et 0,34 V (Cu^{2+}) [199], sont supérieurs à celui imposé lors de l'électrodéposition de CaP ; impliquant alors que l'argent, le zinc ou le cuivre se déposeront sous forme métallique lors du revêtement ce qui n'est pas souhaité car un revêtement incluant des (nano)particules métalliques ne correspond pas au cahier des charges et serait plus délicat à développer industriellement notamment pour des aspects réglementaires et esthétique de l'implant revêtu.

Le revêtement de CaP a alors été réalisé dans un premier temps comme décrit dans le Chapitre IV puis a été dopé par échange ionique (Figure V-17). Cette étape consiste à immerger l'échantillon revêtu dans une solution de nitrate d'argent, de zinc ou de cuivre. Les ions calcium présents dans le revêtement (solide) sont alors échangés par les cations antibactériens d'intérêt (solution). Cette technique est en effet décrite dans la littérature comme permettant l'échange de magnésium, de strontium ou de zinc avec le calcium [144], [200], [201]. Dans notre cas, il est possible d'écrire :

$$2\,Ag^{+}_{solution} + Ca^{2+}_{solide} \leftrightarrow 2\,Ag^{+}_{solide} + Ca^{2+}_{solution} \quad (V.1)$$

$$Cu^{2+}_{solution} + Ca^{2+}_{solide} \leftrightarrow Cu^{2+}_{solide} + Ca^{2+}_{solution} \quad (V.2)$$

$$Zn^{2+}_{solution} + Ca^{2+}_{solide} \leftrightarrow Zn^{2+}_{solide} + Ca^{2+}_{solution} \quad (V.3)$$

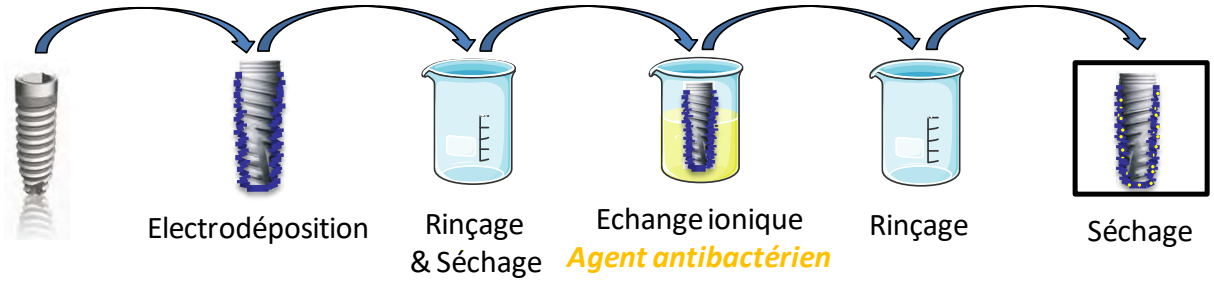


Figure V-17 : Schéma du principe de dopage en ions antibactériens dans le procédé d'électrodéposition

Plus précisément, les pions revêtus sont immergés totalement et de façon individuelle dans un volume de 3 mL de solution d'ions antibactériens. Différentes concentrations en ions antibactériens ont tout d'abord été utilisées : 0,001 ; 0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 et 0,15 mol/L. Le temps d'échange a été fixé dans un premier temps à 15 minutes suite à une étude menée au sein du laboratoire démontrant ce temps comme étant optimal (résultats non publiés). Les échantillons sont ensuite rincés pendant 30 secondes dans de l'eau déminéralisée puis séchés à température ambiante.

V-2-2 Influence du dopage sur le revêtement

L'influence des différentes concentrations en ion dopant sur le revêtement de CaP formé a dans un premier temps été étudiée. Les solutions de nitrate d'argent, de zinc ou de cuivre sont légèrement acides et pourraient engendrer une évolution ou même une dissolution du revêtement pendant l'étape d'échanges ioniques. Les pH de ces solutions sont reportés dans le Tableau V-3.

Afin d'augmenter le pH de ces solutions, de l'ammoniaque a été ajouté comme lors du protocole de dopage des revêtements réalisés par immersions successives décrit précédemment (cf. partie V-1-1). L'ajout de cette solution conduit à la formation d'un précipité puis d'un complexe métallique à pH plus élevé sous forme $[Ag(NH_3)_2]^+$, $[Cu(NH_3)_6]^{2+}$ et $[Zn(NH_3)_6]^{2+}$, capable finalement d'être incorporé dans le revêtement. Cependant, dans un but pratique et en vue d'une potentielle industrialisation cette solution n'a pas été retenue car la morphologie des revêtements après dopage avec et sans ajout d'ammoniaque semblait identique (résultats non présentés).

Tableau V-3 : pH des solutions d'échange ionique contenant les ions antibactériens

[Cu] (mol/L)	pH	[Zn] (mol/L)	pH	[Ag] (mol/L)	pH
0,001	4,9	0,001	6,2	0,001	6,0
0,005	4,6	0,005	5,6	0,005	5,6
0,01	4,6	0,01	5,7	0,01	5,4
0,05	4,2	0,05	5,4	0,05	5,1
0,1	4,0	0,10	5,3	0,10	5,0
0,15	3,8	0,15	5,3	0,15	4,9

Suite à cela, la morphologie des revêtements de CaP dopés suivant les différentes conditions décrites précédemment a été observée au MEB. En comparant avec un revêtement non dopé (Figure V-18a), il est possible de noter l'apparition de nanoparticules à la surface de l'échantillon dopés en utilisant une solution ayant une concentration en cuivre de 0,001 M (Figure V-18b) alors qu'aucun changement n'est observé pour toutes les autres concentrations utilisées pour le dopage, et ce jusqu'à 0,15 M (Figure V-18c). Concernant le dopage au zinc, aucune différence n'est visible d'un point de vue morphologique entre les échantillons dopés, quelle que soit la concentration, et le revêtement de référence non dopé. Les micrographies MEB du revêtement dopé à l'aide de solutions d'échange ionique ayant une concentration en zinc de 0,01 et 0,15 M sont présentées sur les Figure V-18d et e. L'argent, quant à lui, semble avoir une forte influence sur le revêtement car une nouvelle morphologie de forme cubique est observée dès la plus basse concentration des solutions d'échange ionique (0,001 M) en plus du « tapis » de CaP généralement observable (Figure V-18f). La présence de cette phase augmente avec la concentration en argent dans les solutions d'échange ionique

jusqu'à ce que l'échantillon soit entièrement recouvert pour une concentration de 0,15 M (Figure V-18g). Ce changement de morphologie pourrait être attribué à la formation d'une nouvelle phase qui sera étudiée plus précisément par la suite. Il faut également noter que l'analyse EDX indique pour tous les échantillons la présence de calcium, de phosphore et de l'élément antibactérien, démontrant ainsi son association avec le revêtement.

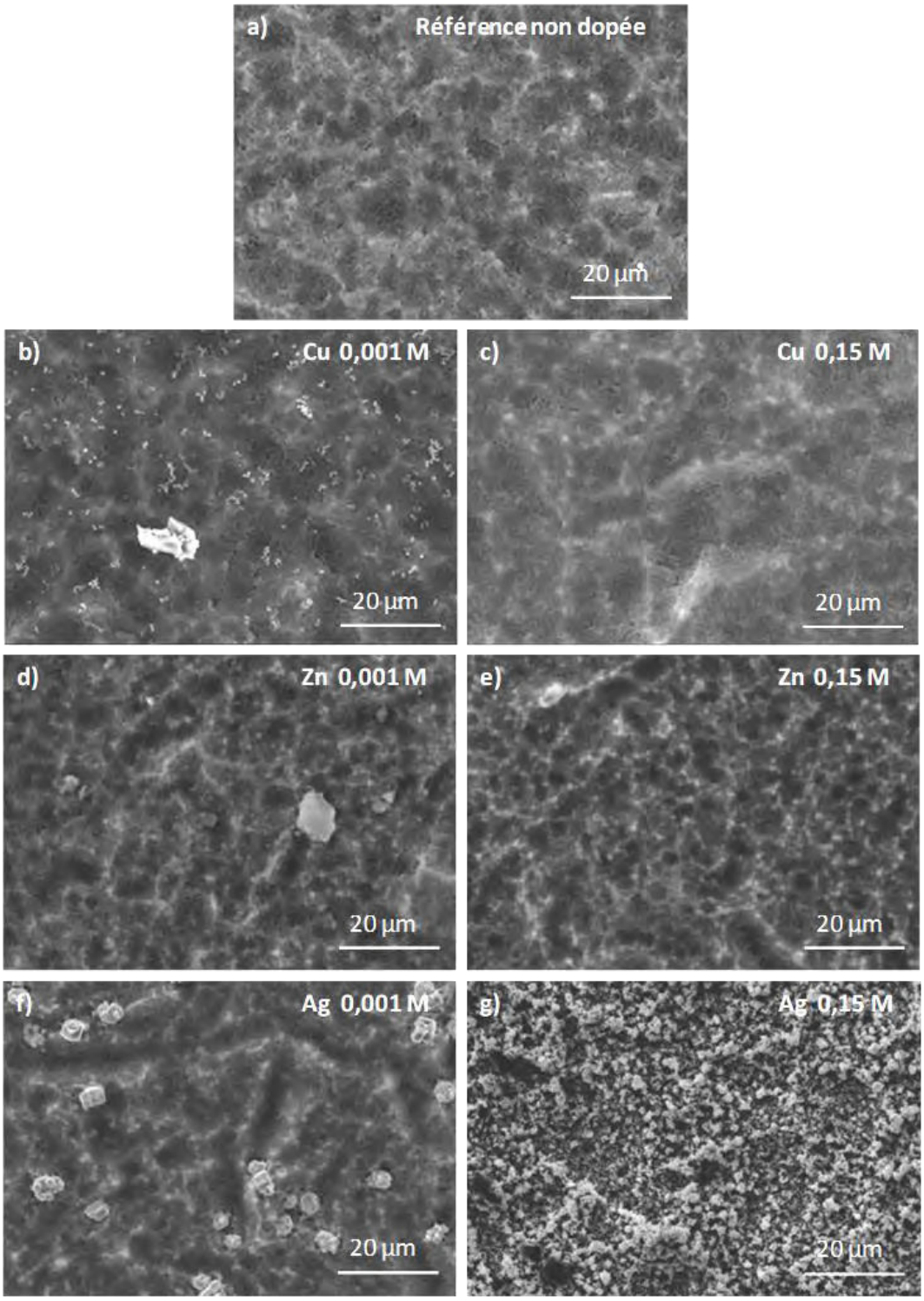


Figure V-18 : Micrographies MEB : a) d'un échantillon revêtu par électrodéposition non dopé (référence); b) et c) d'échantillons dopés à partir de solutions à 0,001 M et 0,15 M de cuivre; d) et e) d'échantillons dopés à partir de solutions à 0,001 M et 0,15 M de zinc et f) et g) d'échantillons dopés à partir de solutions à 0,001 et 0,005 M d'argent

Puis, la structure chimique des revêtements obtenus a été analysée grâce aux spectroscopies FTIR et Raman. Aucun changement de phase n'a été observé par rapport à l'échantillon de référence (non dopé) pour les dopages au cuivre et au zinc (Figure V-19) malgré les particules observées sur l'échantillon Cu 0,001 M.

Cependant, l'apparition de nouvelles bandes sur les spectres FTIR des échantillons dopés avec une concentration supérieure ou égale à 0,005 M d'argent a été observée : à 952 cm^{-1} pour les revêtements après échanges ioniques à partir de solutions à 0,005 et 0,01 M et à 945 cm^{-1} pour ceux obtenus à partir de solutions à 0,05, 0,1 et 0,15 M puis entre 536 et 521 cm^{-1} pour tous les échantillons dopés (Figure V-20). Ces bandes correspondent, malgré un léger décalage en nombres d'onde, à celles du phosphate d'argent Ag_3PO_4 de référence (composé synthétisé au laboratoire). Ce résultat a été confirmé par spectroscopie Raman qui a aussi permis de mettre en évidence cette phase pour l'échantillon dopé à partir d'une solution à 0,001 M d'argent (résultat non présenté). Cela corrobore l'hypothèse de l'apparition d'une nouvelle phase liée à l'observation d'une nouvelle morphologie (Figure V-18f et g) ; maintenant identifiée comme étant du phosphate d'argent. Celui-ci peut en effet être formé d'après un phénomène de dissolution/reprécipitation du revêtement et les réactions de l'argent avec les ions phosphate et hydrogénophosphate issus de la dissolution de l'OCP peuvent être décrites par les équations V.4 et V.5.

$$3\,Ag^+ + PO_4^{3-} \rightarrow Ag_3PO_4 \qquad (V.4)$$

$$3\,Ag^+ + 2\,HPO_4^{2-} \rightarrow Ag_3PO_4 + H_2PO_4^- \qquad (V.5)$$

Le phosphate d'argent est en effet peu soluble ; son produit de solubilité Ks est égal à 8,89 10^{-17} [202], [203]). La valeur obtenue pour ce composé lors du calcul de – log(Ks) est de 16.

Pour l'OCP, la valeur de – log(Ks) est également égale à 16 si l'on rapporte son calcul à un ion phosphate comme dans le cas du phosphate d'argent (cf. Tableau I-8). C'est alors le rapport d'ions en solution qui devient déterminant dans l'orientation de la réaction. Dans notre cas, pour des concentrations élevées d'argent dans le bain d'échange ionique, les ions argent sont en excès par rapport aux ions calcium jusqu'à ce que les ions calcium issus de la dissolution de l'OCP et donc présents en solution soient alors en excès par rapport aux ions argent. La réaction de dissolution de l'OCP et de reprécipitation sous forme d'Ag_3PO_4 s'arrête alors et un nouvel équilibre est atteint. Ceci permet donc d'expliquer pourquoi le phosphate d'argent précipite en remplaçant le phosphate de calcium. Une autre explication peut être liée au pH. En effet, le pH légèrement acide des solutions d'échange ionique contenant l'argent (4,9 – 6,0) peut conduire à la dissolution du revêtement libérant ainsi les ions phosphate et hydrogénophosphate capables donc de réagir avec l'argent pour former le phosphate d'argent. Cette hypothèse n'est cependant pas validée par les expériences

menées avec le cuivre opérant à des pH encore plus acides. Le phosphate de cuivre pourrait être formé car il possède une solubilité encore plus faible que celle du phosphate d'argent (pKs = 18,5 ramené à un ion phosphate [202], [203]). Un facteur thermodynamique ou cinétique pourrait alors rentrer en jeu.

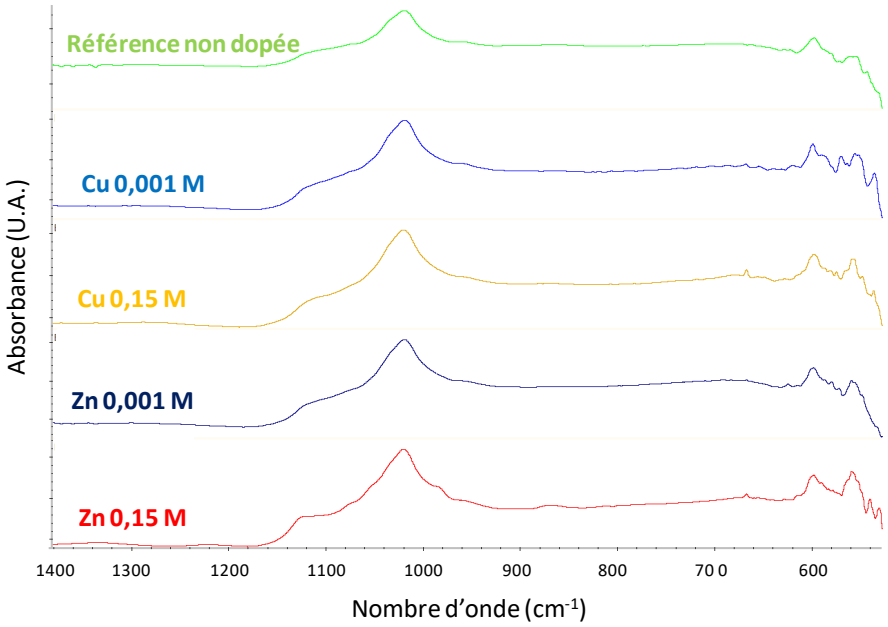


Figure V-19 : Spectres FTIR-ATR des échantillons dopés au cuivre et au zinc à partir de solutions à 0,001 M et 0,15 M en comparaison avec un échantillon non dopé

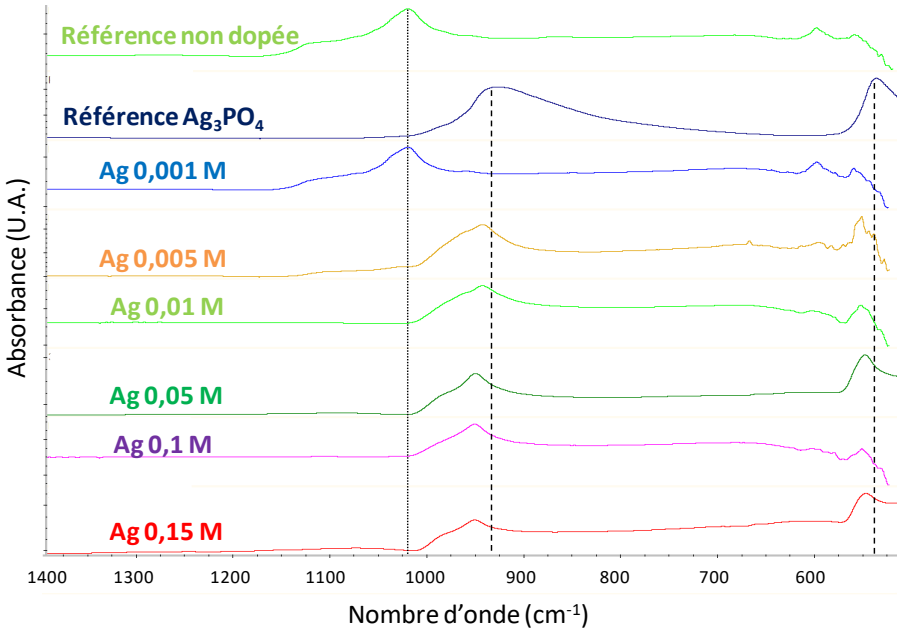


Figure V-20 : Spectres FTIR des échantillons dopés à l'argent à partir de solutions de 0,001 M à 0,15 M en comparaison avec un échantillon non dopé

Suite à cela, des concentrations plus faibles en ions argent dans les solutions d'échange ionique, soit $5x10^{-4}$, $2,5x10^{-4}$, $1x10^{-4}$ et $5x10^{-5}$ M d'argent, ont été utilisées afin d'éviter la formation d'une nouvelle phase comme Ag_3PO_4.

Finalement, la quantité d'ions antibactériens réellement incorporés a été étudiée par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) en réalisant le dosage du calcium et de l'ion antibactérien comme décrit précédemment lors du dopage des revêtements élaborés par immersions successives (cf. partie V-1-2).

Les résultats de ces dosages sont présentés sur la Figure V-21 où il est possible d'observer qu'un palier est atteint pour le dopage en cuivre et en zinc lors de l'utilisation d'une solution d'échange ionique ayant une concentration supérieure ou égale à 0,01 M. Ce phénomène a en effet été observé par *Drouet et al.* mettant en évidence un isotherme d'adsorption de Langmuir dans le cas de l'échange ionique de cations bivalents tels que Mg^{2+} et Sr^{2+} avec Ca^{2+} [201]. Cela indique que la quantité d'ions échangeables dans le cas du cuivre et du zinc est limitée car seule la surface réagit avec la solution d'échange et finit par être saturée. *A contrario*, aucun palier n'est observable sur la courbe représentant le dopage à l'argent pour lequel le pourcentage d'argent incorporé augmente avec la concentration de la solution d'échange ionique. Il est aussi possible de noter que la quantité de cuivre et de zinc incorporé, respectivement de 11 à 27 % et de 13 à 25 %, est bien plus élevée que celle d'argent allant de 0,1 à 1,5 %. Cela s'explique principalement par l'utilisation de solutions bien moins concentrées lors du dopage en argent. En effet, le point correspondant à la concentration la plus élevée lors du dopage à l'argent (0,0005 M) représente la moitié de la concentration la plus basse utilisée lors du dopage au cuivre ou au zinc (0,001 M). De plus, l'argent peut également avoir des difficultés à remplacer le calcium dans la structure et/ou dans la couche hydratée à la surface des cristaux de CaP constituants le revêtement. D'une part, l'argent est monovalent alors que le calcium, le cuivre et le zinc sont bivalents ; engendrant alors un problème d'électroneutralité si aucune autre compensation de charges n'est possible dans le solide. D'autre part, le rayon ionique de l'argent égal à 115 picomètres est supérieur à celui du calcium, du cuivre (II) ou du zinc respectivement égaux à 100, 73 et 74 pm [204] ; ce qui pourrait limiter son incorporation. Ces deux dernières hypothèses sont difficilement vérifiables dans notre cas car les concentrations des solutions d'échange ionique sont différentes dans le cas de l'argent comparé à celles du cuivre ou du zinc. Le fait qu'un palier ne soit pas observable lors du dopage par l'argent peut donc signifier que la quantité maximum d'ions échangeables n'est pas atteinte contrairement aux cas du cuivre et du zinc ou bien qu'un phénomène de dissolution/reprécipitation commence. Ce phénomène peut en effet se confirmer par les précédentes observations concernant l'apparition d'Ag_3PO_4 lors de l'utilisation de solutions concentrées en argent pour le bain d'échange ionique. Il faut également noter que l'écart-type associé aux pourcentages mesurés est élevé et plus particulièrement pour les concentrations élevées en ions antibactériens dans le bain d'échange ionique. Cet écart-type provient des dosages obtenus d'après deux expériences d'échange ionique. La dispersion importante des résultats obtenus peut s'expliquer par le fait que l'incorporation des ions antibactériens dans le revêtement est un

phénomène complexe et dépendant de nombreux facteurs pas toujours contrôlés lors de la manipulation à savoir : la surface exposée qui peut varier d'un échantillon à l'autre, la température, la mouillabilité du revêtement qui peut être plus ou moins pollué.

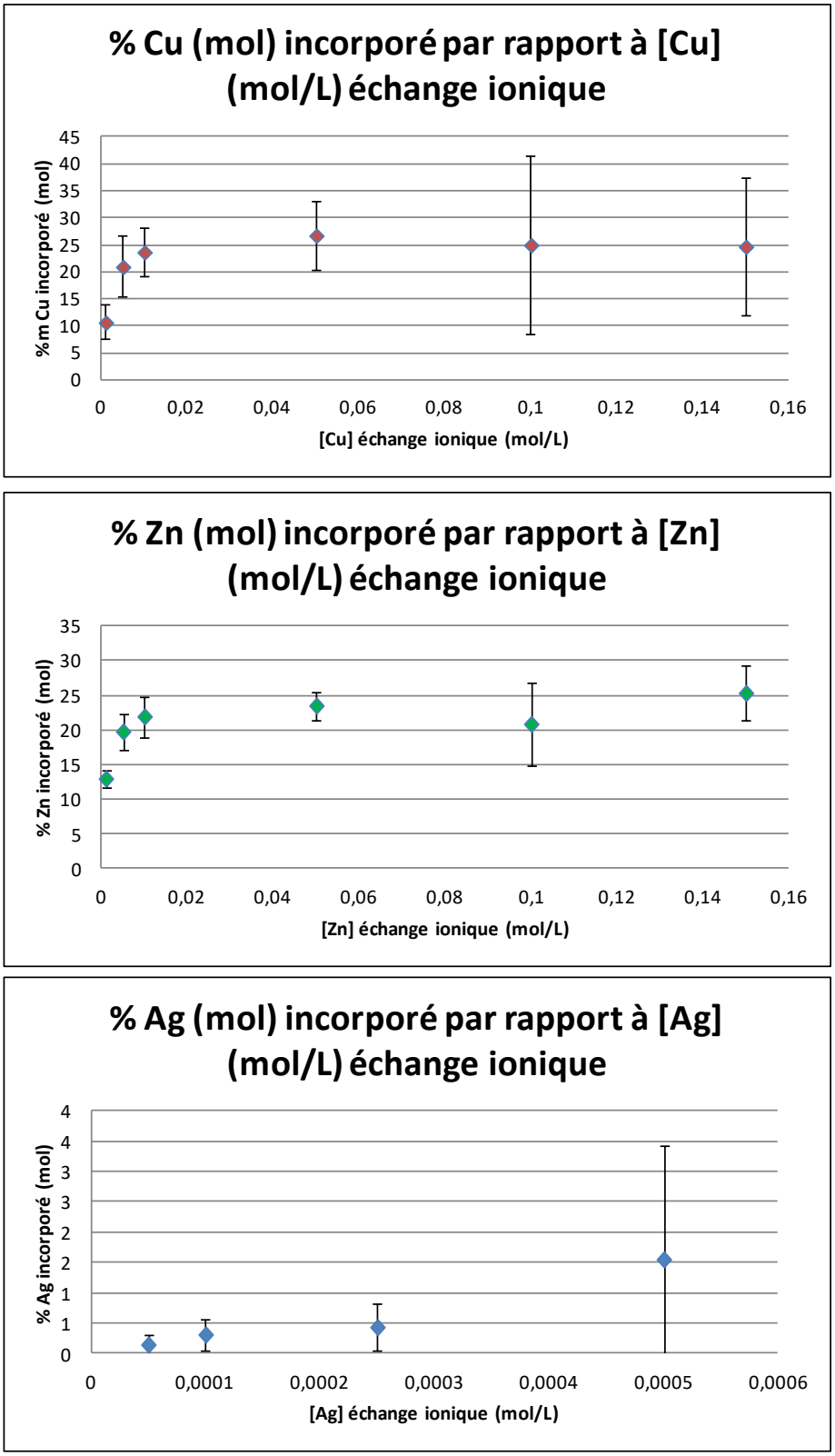


Figure V-21 : Pourcentage d'ions antibactériens incorporés dans le revêtement par rapport aux cations totaux en fonction de la concentration de la solution d'échange ionique pour les différents ions antibactériens étudiés (Cu, Zn et Ag)

Enfin, une étude complémentaire serait nécessaire afin de déterminer les sites calcium substitués par les ions cuivre, zinc ou argent. Ceux-ci sont certainement échangés à la surface hydratée des cristaux d'OCP. Le test dit « d'échange inverse » (ré-immersions du revêtement dopé dans un bain de calcium) pourrait nous permettre de vérifier cela (réversibilité de l'échange dans le cas d'un échange avec les ions de la couche hydratée à la surface des cristaux de CaP et non avec ceux au sein de la structure).

V-3. Evaluation des propriétés biologiques des revêtements dopés

Afin d'évaluer l'effet des ions antibactériens incorporés dans les revêtements, un protocole permettant la formation d'un biofilm et visant à mimer la péri-implantite a été développé par le groupe du Pr Christine Roques au Laboratoire de Génie Chimique (LGC) de Toulouse. La préparation des échantillons pour les essais biologiques sera décrite dans un premier temps. Puis le protocole permettant la mise en place du biofilm sera explicité ainsi que les tests préliminaires ayant été réalisés avant l'utilisation de ce modèle. Enfin, seulement les premiers résultats concernant le dopage des revêtements électrodéposés seront présentés en raison d'une mauvaise répétabilité du protocole de dopage pour le procédé de revêtement par immersions successives et de l'obtention de revêtements non couvrants (cf. partie V-1).

V-3-1 Préparation des échantillons pour les tests biologiques

Les échantillons pour les essais biologiques ont été réalisés dans les conditions les plus propres possibles avec le matériel à disposition au CIRIMAT et au LGC. En effet, ceux-ci ont été synthétisés au laboratoire comme habituellement mais rincés à l'eau distillée stérile et transportés dans cette eau jusqu'à une hotte à flux laminaire permettant de travailler en conditions stériles. Une fois sous la hotte, ils ont été lavés à nouveau à l'eau distillée stérile et laissés pour séchage sous cette hotte pendant une nuit. Il faut noter que le dopage par échange ionique est réalisé sous la hotte à flux laminaire et que le lavage est réalisé à l'eau distillée stérile.

En parallèle, sous la hotte, des supports ont été préparés et insérés dans des blisters fournis par l'entreprise. Ces supports se composent d'une résine coulée dans les blisters dans laquelle une vis de diamètre M2 est insérée (Figure V-22). Après séchage des échantillons et polymérisation de la résine durant une nuit, les pions sont vissés sur les supports dans les blisters permettant leur immobilisation. Par la suite, les blisters contenant les échantillons sont thermoscellés avant d'être positionnés dans de plus gros blisters et à nouveau thermoscellés. Ce double emballage permet une protection des échantillons contre diverses contaminations avant leur utilisation pour les tests biologiques.

La stérilisation est ensuite effectuée par rayonnement Gamma (dose de 25-40 kGy) chez un sous-traitant.

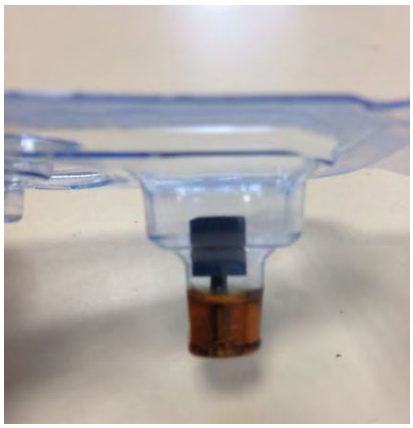


Figure V-22 : Montage réalisé avant d'envoyer les pions à la stérilisation par rayonnement gamma: résine + vis

V-3-2 Protocole d'évaluation de l'activité anti-biofilm d'un revêtement sur biofilms type péri-implantites

L'objectif de cette étude est d'évaluer *in vitro*, sur les surfaces développées à visée antibactérienne durant ce travail de thèse, l'activité anti-biofilm des revêtements, selon le protocole décrit par *Guggenheim et al.* [205] et adapté au laboratoire de Génie Chimique, caractérisé par un inoculum entièrement reconstitué (mélange de souches identifiées). L'originalité du modèle repose sur la prise en compte des différentes étapes de formation de la plaque dentaire : plaque abiotique initiale correspondant à une étape de conditionnement par la salive, plaque microbienne combinant des espèces considérées comme pionnières (phase initiale d'adhésion : *S. gordonii* et *A. naeslundii*) et des espèces considérées comme des colonisatrices secondaires (ex *: F. nucleatum*) et tertiaires (ex. *: P. gingivalis*).

V-3-2-a. Inoculum

L'inoculum est préparé en effectuant un mélange à concentrations définies entre les souches suivantes, issues de la Collection de L'institut pasteur (Paris, France) :

- *Streptococcus gordonii*	*CIP 105258T*
- *Actinomyces naeslundii*	*CIP 103128T*
- *Fusobacterium nucleatum*	*CIP 101130T (ATCC 25586)*
- *A. actinomycetemcomitans*	*CIP 52106T (ATCC 33384)*
- *P. intermedia*	*CIP 103607*

- *P. gingivalis* *CIP 103683*
- *P. micra* *CIP 105294T*

Les souches sont conservées dans une solution cryprotectrice à - 80 °C.

V-3-2-b. Milieux de culture

- Entretien des souches :

Gélose *Wilkins Chalgren* (WC) gélose et Gélose *Columbia* + 5 % de sang stérile de cheval, incubation à 37 ± 2 °C en atmosphère anaérobie (sous 5 % de CO_2 pour *A. actinomycetemcomitans*).

- Milieu de formation du biofilm :

Milieu universel modifié FUM *(Fluid Universal Medium)* [205]

- Dénombrement des unités formant une colonie (UFC) :

Gélose WC + 5 % de sang stérile de cheval et Gélose WC + 5 % de sang stérile de cheval additionnée de 0,075 g/L de vancomycine (gélose sélective Gram -) incubation à 37 ± 2 °C en atmosphère anaérobie (sous 5 % de CO_2 pour *A. actinomycetemcomitans*).

V-3-2-c. Supports de formation de biofilm :

Pions en titane de 6 mm de diamètre revêtus par électrodéposition ou non, dopés ou non. Microplaques stériles 24 puits.

V-3-2-d. Conditionnement par la salive :

Pool de salives (récupéré sur Salivette®) : des échantillons de salive prélevés par salivette® ont été immédiatement filtrés sur des membranes de porosité 0,45 µm, avant mise en commun.

Un conditionnement de la surface des plots est réalisé par recouvrement par la salive pendant 1 heure (essai 1) ou 15 min (essai 2) à température ambiante [205]–[207].

V-3-2-e. Méthodes

Après élimination de la salive, les pions sont recouverts par 1,6 mL de milieux de culture constitué de 50 % de salive et 50 % de milieu universel modifié. Les puits sont ensuite inoculés avec une suspension mixte (200 µL) préparée à partir de suspensions bactériennes présentant des titres spécifiques pour chaque micro-organisme :

- *Streptococcus gordonii*	CIP 105258T	10^3/mL
- *Actinomyces naeslundii*	CIP 103128T	10^5/mL
- *Fusobacterium nucleatum*	CIP 101130T (ATCC 25586)	10^7/mL
- *A. actinomycetemcomitans*	CIP 52106T (ATCC 33384)	10^7/mL
- *P. intermedia*	CIP 103607	10^7/mL
- *P. gingivalis*	CIP 103683	10^7/mL
- *P. micra*	CIP 105294T	10^6/mL

Les microplaques sont incubées en anaérobiose à 37 ± 2 °C. Après 24 heures d'incubation, le milieu est renouvelé avec 1,6 mL de milieu constitué de 50 % de salive et de 50 % de FUM.

Le dénombrement est effectué à différents temps d'incubation afin d'évaluer la cinétique de colonisation et l'effet inhibiteur potentiel sur la formation du biofilm :

- Dénombrement des bactéries viables adhérées

A chaque temps d'analyse, après 2 rinçages avec 2 mL de PBS *(Phosphate Buffered Saline)*, les pions sont grattés stérilement en présence de tryptone-sel (2 mL ; Biomérieux, Craponne, France). La suspension est homogénéisée. Des dilutions de raison 10 sont réalisées et 100µL de chaque dilution sont étalés sur les milieux gélosés permettant la distinction des groupes bactériens.

Après 5 à 7 jours d'incubation à 37 ± 2 °C, les colonies sont dénombrées une première fois, puis après une incubation supplémentaire de 14 jours (pour *P. gingivalis*). Les valeurs obtenues sont transformées en logarithmes décimaux avant d'effectuer l'analyse comparative (contrôles vs essais).

Les essais sont réalisés en simple.

V-3-3 Essais préliminaires

Avant de commencer les essais biologiques, l'impact de la stérilisation ainsi que de l'immersion des échantillons revêtus dans la salive pendant une heure, comme décrit dans le protocole précédent, doit être investigué. Aussi, l'effet antibactérien des sels utilisés dans ce travail à savoir les nitrates d'argent, de cuivre et de zinc vis-à-vis des souches bactériennes présentées précédemment dans le protocole sera évalué via la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB).

V-3-3-a. Influence de la stérilisation Gamma sur le revêtement de phosphate de calcium

Les pions revêtus de phosphate de calcium (CaP) par électrodéposition ont été observés avant et après stérilisation aux rayonnements gamma. Deux échantillons ont été observés à chaque fois et aucun changement au niveau de la morphologie du revêtement n'est constaté (Figure V-23).

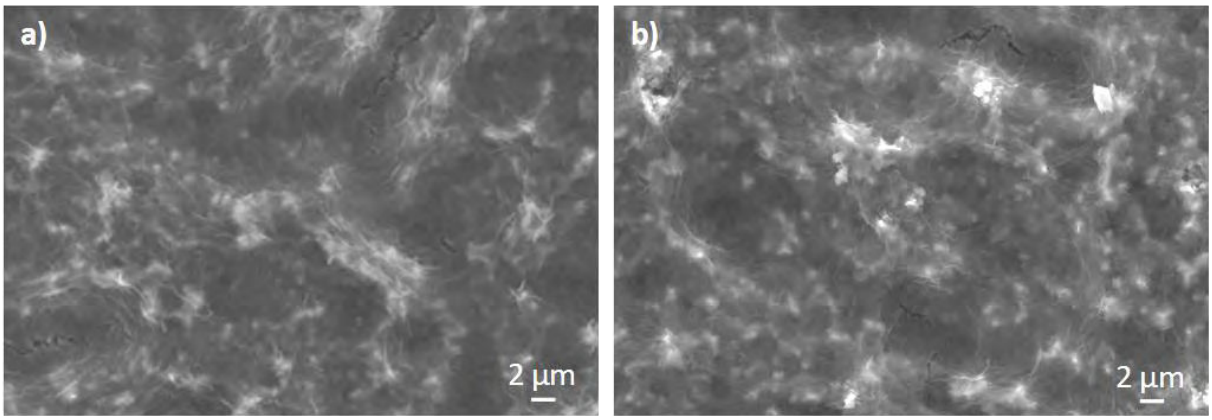
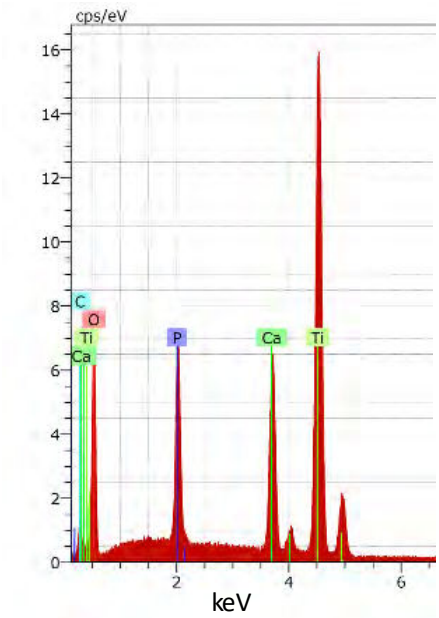


Figure V-23 : Micrographies MEB du revêtement obtenu par électrodéposition avant (a) et après (b) stérilisation aux rayonnements gamma

De plus, l'analyse EDX indique uniquement la présence de Ti, O, Ca, P et C ; comme habituellement, traduisant le fait que la surface ne semble pas contaminée par la résine utilisée lors de la fabrication du support pour les pions à stériliser (Figure V-24). Ce résultat est confirmé par la spectroscopie FTIR qui indique que seul le revêtement de CaP est présent et n'a pas été modifié (Figure V-25).



El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
Ti	22	K-series	48.58	44.30	23.41	1.44
O	8	K-series	41.68	38.01	60.12	5.43
Ca	20	K-series	10.20	9.30	5.87	0.34
P	15	K-series	6.01	5.48	4.48	0.26
C	6	K-series	3.18	2.90	6.12	0.62
		Total:	109.66	100.00	100.00	

Figure V-24 : Analyse EDX de la surface d'un échantillon revêtu par électrodéposition après stérilisation aux rayonnements gamma

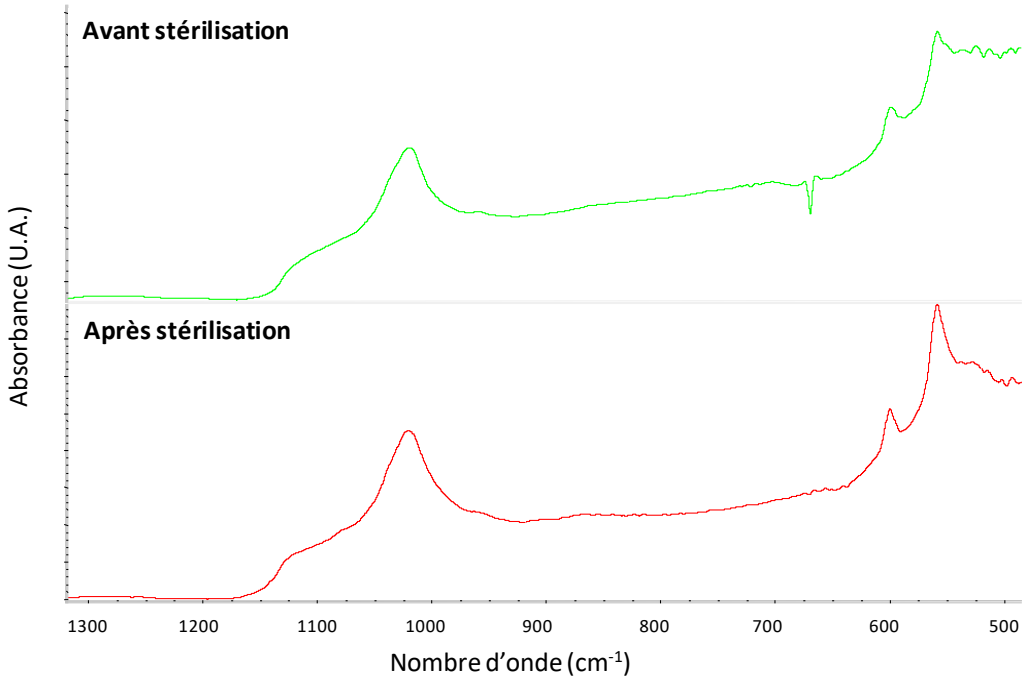


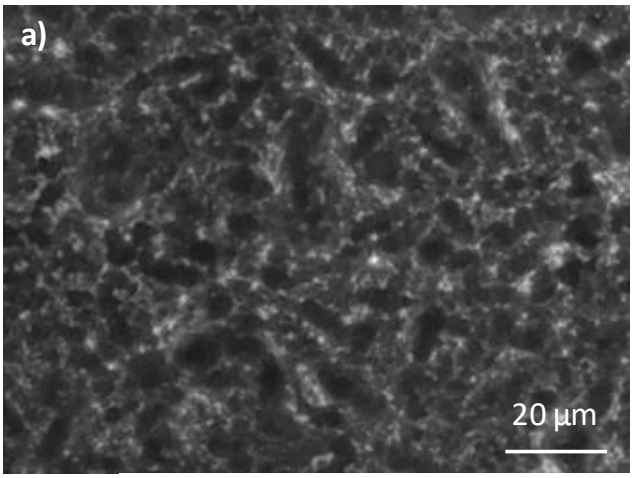
Figure V-25 : Spectres FTIR-ATR des revêtements obtenus par électrodéposition : avant et après stérilisation aux rayonnements gamma

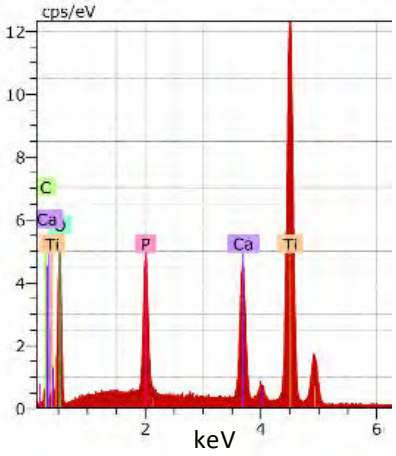
V-3-3-b. Détermination du temps de conditionnement dans la salive

Comme précédemment explicité dans le protocole d'évaluation de l'activité anti-biofilm d'un revêtement, une étape de conditionnement de la surface par la salive est nécessaire avant de mettre en contact les bactéries avec l'échantillon revêtu. Celui-ci étant classiquement défini à 1 h et notre revêtement étant soluble, une étape préliminaire de vérification a été nécessaire pour voir si cette immersion ne dissolvait pas en partie ou complètement le revêtement. Des pions revêtus par électrodéposition non dopé ainsi qu'un pion dopé au cuivre (Cu 0,001 M, représentant le cas le plus critique car le taux d'incorporation est le plus faible) ont été immergés pendant 1 h dans la salive humaine.

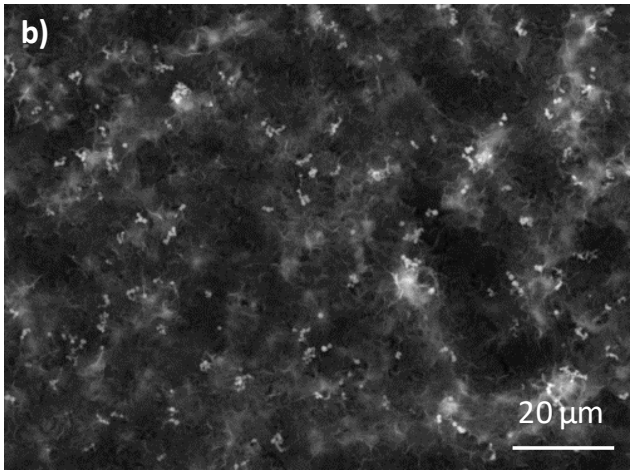
Le revêtement non dopé est toujours présent après 1 h d'immersion et le phosphate et le calcium sont toujours détectés par analyse EDX (Figure V-26a). Le revêtement dopé (Cu 0,001 M) est lui aussi toujours présent après 1 h d'immersion dans la salive mais les particules présentes sur la référence ont disparu (Figure V-26b et c). De plus, l'analyse EDX indique encore la présence de Ca, de P et de Cu ; cependant, le rapport [Cu]/[Cu+Ca] est plus faible après immersion d'une heure dans la salive (6,6 %) par rapport à la référence (27 %). Ce résultat reste critiquable car l'analyse EDX ne permet pas de faire une quantification précise des éléments mais semble indiquer qu'une partie de l'agent antibactérien a été libéré dans la salive et ne sera donc pas en contact avec les bactéries lors du test de l'activité anti-biofilm.

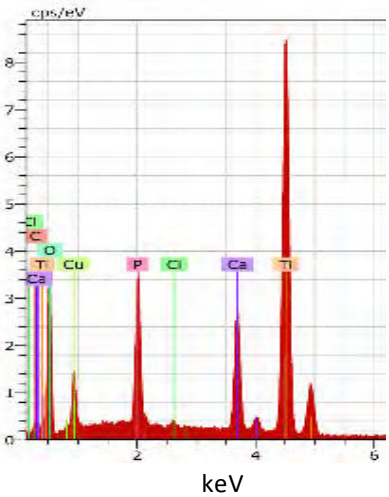
Un temps de conditionnement dans la salive de 15 minutes a donc été sélectionné afin de diminuer au maximum cet effet de relargage de l'agent antibactérien avant le début du test tout en conservant l'étape de conditionnement de la surface de l'échantillon à tester.



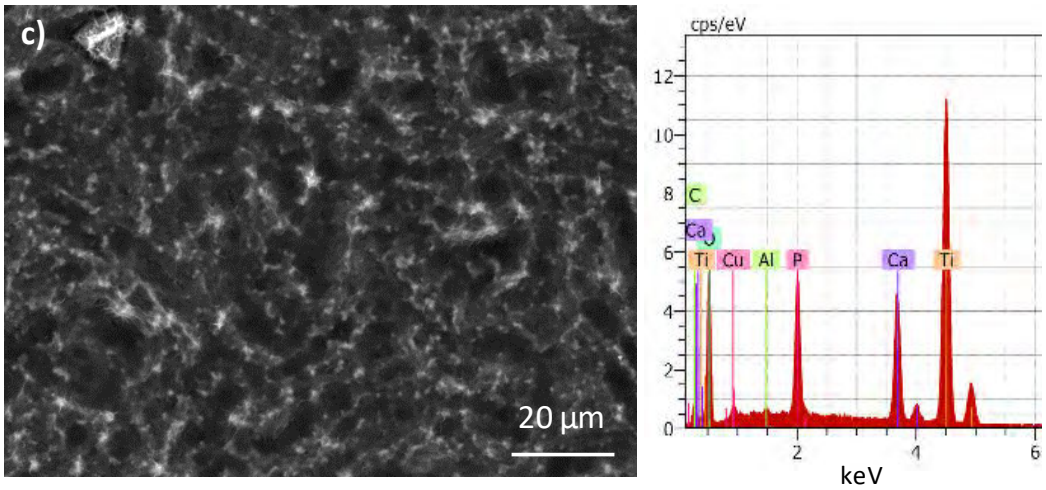


El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
Ti	22	K-series	54.43	47.67	26.13	1.61
O	8	K-series	42.01	36.79	60.34	5.50
Ca	20	K-series	10.01	8.76	5.74	0.33
P	15	K-series	5.98	5.24	4.44	0.26
C	6	K-series	1.75	1.54	3.36	0.41
		Total:	114.18	100.00	100.00	





El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
Ti	22	K-series	56.44	47.27	26.94	1.66
O	8	K-series	42.09	35.25	60.12	5.52
Ca	20	K-series	8.79	7.37	5.01	0.30
P	15	K-series	5.79	4.85	4.27	0.25
Cu	29	K-series	5.18	4.34	1.86	0.24
C	6	K-series	0.87	0.73	1.65	0.27
Cl	17	K-series	0.23	0.20	0.15	0.04
		Total:	119.39	100.00	100.00	



El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
Ti	22	K-series	50.30	44.19	23.55	1.49
O	8	K-series	42.74	37.55	59.87	5.56
Ca	20	K-series	10.62	9.33	5.94	0.35
P	15	K-series	5.57	4.89	4.03	0.24
C	6	K-series	3.26	2.86	6.07	0.64
Cu	29	K-series	1.20	1.06	0.42	0.10
Al	13	K-series	0.13	0.11	0.11	0.03
		Total:	113.82	100.00	100.00	

Figure V-26 : Micrographie MEB et analyse EDX de : a) un revêtement non dopé immergé pendant 1 h dans la salive; b) un revêtement dopé Cu 0,001 M de référence et c) un revêtement dopé Cu 0,001 M après 1 h d'immersion dans la salive

V-3-3-c. Evaluation de l'activité antibactérienne des sels de nitrate de cuivre, d'argent et de zinc (CMI/CMB)

L'activité antibactérienne des sels antibactériens mis en œuvre dans cette étude à savoir les nitrates d'argent, de cuivre et de zinc a été évaluée vis-à-vis de chacune des souches bactériennes composant le biofilm, sur la forme planctonique. Le protocole suivi pour la détermination des CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices) et CMB (Concentrations Minimales Bactéricides) ainsi que les résultats sont décrits ci-après.

Les souches utilisées sont les suivantes :

- *Streptococcus gordonii* CIP 105258T
- *Actinomyces naeslundii* CIP 103128T
- *Fusobacterium nucleatum* CIP 101130T (ATCC 25586)
- *A. actinomycetemcomitans* CIP 52106T (ATCC 33384)
- *P. intermedia* CIP 103607
- *P. micra* CIP 105294T

Les essais ayant été réalisés en microméthode, la souche *P. gingivalis* CIP 103683 n'a pu être testée.

Les suspensions bactériennes sont préparées extemporanément à environ 10^8 UFC/mL.

Les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- Milieu de détermination des CMI : Bouillon Muller Hinton (MH) + 10 % de sérum de veau fœtal (SVF)
- Milieu de détermination des CMB : Gélose Columbia + 5 % de sang stérile de mouton, incubation à 37 ± 2 °C en atmosphère anaérobie (5 % de CO_2 pour *A. actinomycetemcomitans*).

Des solutions des 3 sels de nitrates d'intérêt (nitrate d'argent, de cuivre et de zinc) sont ensuite préparées extemporanément à une concentration de 1000 µg/mL dans l'eau distillée stérile.

Les concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) de chacun de ces sels ont été déterminées spécifiquement sur chaque souche bactérienne de façon indépendante, Pour cela, 100 µL de bouillon MH + SVF sont déposés dans les puits d'une microplaque 24 puits. Après ajout de 100 µL de solution test dans 2 des puits de la première colonne (plus haute concentration testée = 500 µg/mL), des dilutions sériées de raison 2 sont réalisées, sous un volume de 100 µL, des colonnes 1 à 10 incluses. Puis, 100 µL de chaque suspension test sont déposés dans les puits d'une seconde microplaque (à l'exception des puits de la colonne 11 : témoin stérilité). L'inoculation de la première microplaque est réalisée à l'aide d'un inoculateur multipoint Denley (transfert de 1 à 3 µL de la plaque 2 vers la plaque 1). La colonne 12 correspond au témoin de croissance. Les microplaques sont alors incubées selon les indications décrites précédemment.

Après incubation de 24 à 48 h, les CMI sont déterminées visuellement (plus petite concentration avec absence de croissance visible).

L'ensemble des microplaques est repiqué (inoculateur Denley) sur gélose Columbia + sang de mouton pour la détermination des CMB. Les géloses sont incubées selon les indications précédentes. Après incubation de 24 à 48 h, les CMB sont déterminées visuellement (plus petite concentration avec absence de croissance visible). Les CMI et CMB sont déterminées en duplicat. Un écart d'une dilution entre les deux essais est considéré acceptable et donne lieu à la mention des deux valeurs observées.

Les valeurs de CMI/CMB, exprimées en µg/mL, pour les trois sels d'ions antibactériens ainsi que pour les 6 souches bactériennes sont présentées dans le Tableau V-4. Il apparait, en accord avec la littérature, que des concentrations beaucoup moins importantes d'argent sont nécessaires pour avoir le même effet antibactérien que pour le cuivre et le zinc. Ces derniers présentent à peu près les mêmes valeurs de CMI et CMB.

Tableau V-4 : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) en µg/mL pour le nitrate d'argent, de cuivre et de zinc envers chaque souche bactérienne qui seront par la suite utilisées conjointement dans le modèle de biofilm péri-implantite

	Cu		Ag		Zn	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
Streptococcus gordonii	250	≥ 500	7,8	15,6	250	500
Actinomyces naeslundii	15,6	500	7,8	31,3 - 15,6	250	500
F. nucleatum	500	500	15,6	15,6	500	500
A. actinomycetem.	125	125	3,9 - 2,0	7,8	31,3	31,3
P. intermedia	3,9	3,9	0,13-0,06	0,25-0,13	15,6	31,3
P. micra	0,98	0,98	0,98	0,98	62,5	125

V-3-4 Evaluation des propriétés antibactériennes des revêtements sur le modèle de biofilm

Un premier essai a été réalisé sur différents substrats de titane non revêtus (et donc sans agent antimicrobien), à savoir la surface SLA de référence proposée par le partenaire industriel (SLA A et B) et la surface SLA 311 développée durant ce travail de thèse (SLA 311 A et SLA 311 B), afin de valider les conditions expérimentales. Une cinétique de colonisation des surfaces a été réalisée (4h, 24h et 48h).

Les valeurs indiquées sur la Figure V-27 correspondent aux dénombrements de la flore totale (FT), des bactéries à Gram + (G+ : *Streptococcus gordonii* CIP 105258T, *Actinomyces naeslundii* CIP 103128T et *P. micra* CIP 105294T), des bactéries à Gram – (G- : *Fusobacterium nucleatum* CIP 101130T (ATCC 25586), *A. actinomycetemcomitans* CIP 52106T (ATCC 33384), *P. intermedia* CIP 103607 et *P. gingivalis* CIP 103683) sous forme adhérée. L'essai a été réalisé une fois.

En termes de colonisation, nous pouvons noter une prédominance des bactéries à Gram + au temps 4 heures, cohérente avec la notion d'adhésion et de prolifération de colonisatrices précoces. Au temps 24 heures, la population à Gram – commence à s'équilibrer avec celle à Gram + indiquant une installation des colonisatrices secondaires et tertiaires. Le temps 48 heures correspond à un développement de l'ensemble du consortium bactérien. Au vu de ces résultats et en considérant

l'objectif d'une inhibition de la formation du biofilm (inhibition d'adhésion et/ou inhibition de croissance initiale sous forme adhérée), nous avons conservé les temps d'analyse 4 heures et 24 heures pour l'évaluation de l'activité des pions dopés.

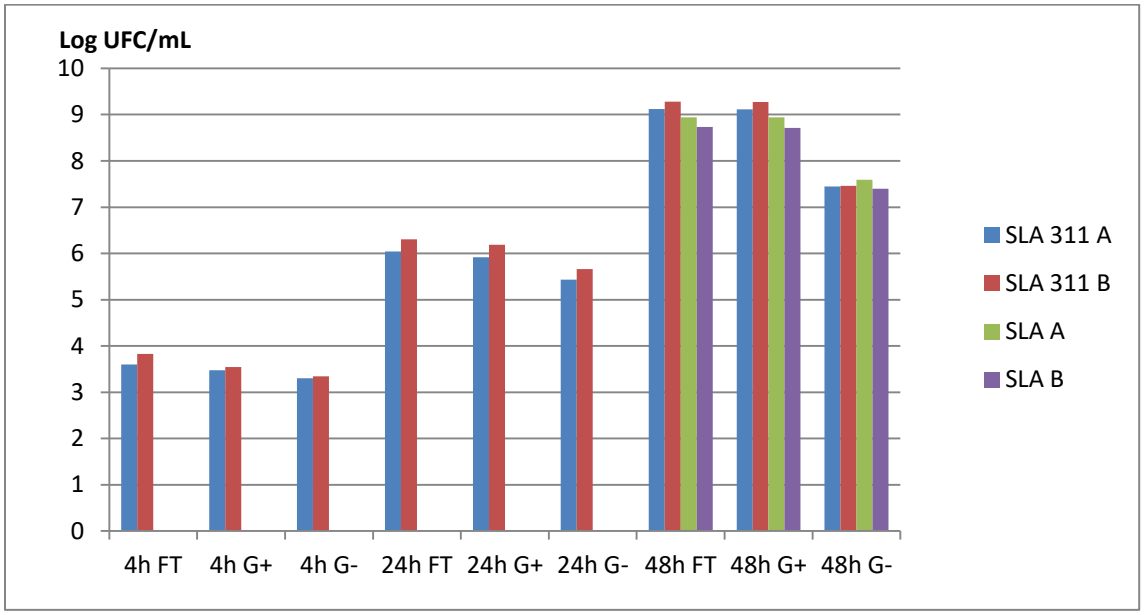


Figure V-27 : Nombre d'UFC sur des échantillons non revêtus SLA et SLA 311 après 4 h, 24 h et 48 h de contact avec les 7 souches bactériennes

Les premiers essais microbiologiques avec le modèle de biofilm ont été menés sur les échantillons revêtus par électrodéposition non dopés et dopés avec les plus bas taux d'ions antibactériens à savoir : Cu 0,001 M, Zn 0,001 M et Ag 10^{-5} M. Le choix de concentrations basses est justifié par la recherche d'une activité spécifiquement anti-biofilm locale, sans relargage massif d'agent antibactérien. Les unités formant colonies (UFC) ont été dénombrées après 4 et 24 heures de contact avec les 7 souches bactériennes décrites précédemment. Les valeurs indiquées sur la Figure V-28 correspondent aux dénombrements de la flore totale (FT), des bactéries à Gram + et des bactéries à Gram – comme décrit prcédemment lors du premier essai.

Les dopages à l'argent et au zinc n'induisent pas de réduction du développement bactérien que ce soit en termes de flore totale, de populations à Gram + ou à Gram -. Le seul effet notable est observé pour le cuivre avec une réduction de la flore Gram – d'1,5 log. Ce résultat positif est confirmé par les analyses réalisées après 24 heures de contact. Le cuivre induit alors une réduction de l'ensemble de la population (FT, G+ et G-). Le cuivre semble donc limiter le développement bactérien mais son action reste à confirmer et à évaluer en fonction de la concentration.

Dans le cas de l'argent, la non détection d'une activité pourrait être reliée à une dose incorporée dans le revêtement trop faible. Les résultats obtenus indiquent cependant que le ratio dose active Ag/Cu est différent sur bactéries planctoniques en conditions optimales de croissance (CMI/CMB) et sur bactéries en modèle biofilm.

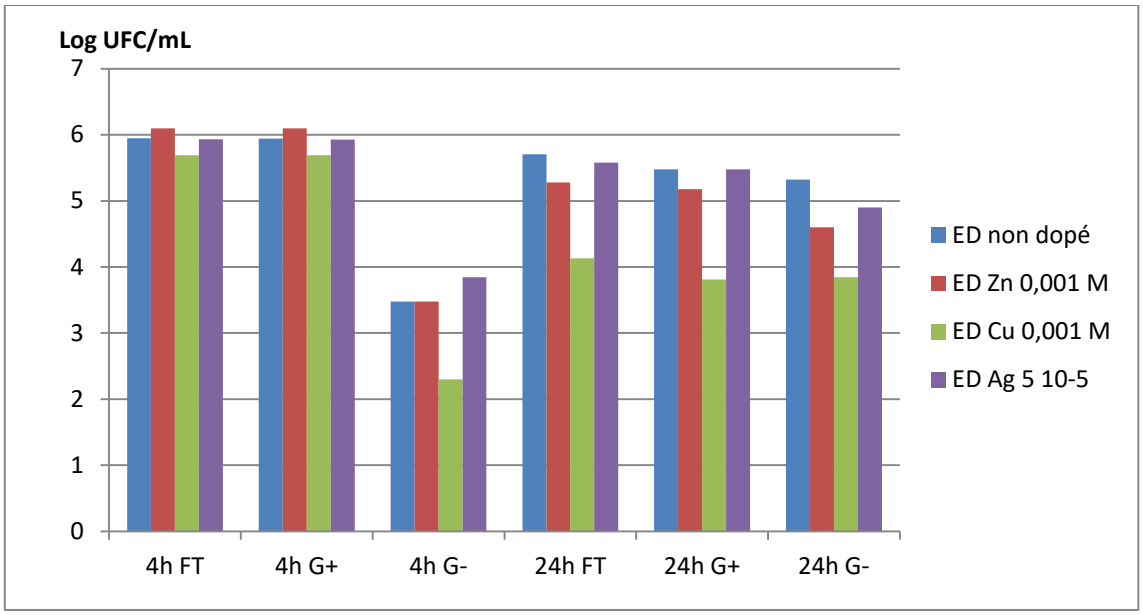


Figure V-28 : Nombre d'UFC sur des échantillons revêtus par électrodéposition non dopés, dopés avec une solution à 0,001 M de zinc ou de cuivre ou 5 10^{-5} M d'argent après 4 h et 24 h de contact avec les 7 souches bactériennes

Même si l'incorporation de cuivre semble prometteur, des essais avec des taux de dopage plus importants seront réalisés avec ces trois agents antibactériens afin d'évaluer si des propriétés anti-biofilm peuvent être détectées. La cytotoxicité des échantillons présentant une activité anti-biofilm sera évaluée dans un deuxième temps.

En résumé, l'incorporation d'agents antibactériens dans les revêtements élaborés par le procédé d'immersions successives est difficile car de nombreux changements au niveau du protocole de formation des revêtements ont été nécessaires et les résultats obtenus ne sont toujours pas probants. L'effet de l'ajout de ces ions lors de la formation du revêtement doit donc être davantage investigué. Le protocole d'échange ionique permettant le dopage des revêtements élaborés par électrodéposition est quant à lui relativement simple. Après une immersion de 15 minutes dans des bains de nitrates de cuivre ou de zinc, des taux d'incorporation importants de ces derniers sont observés sans modification de la phase de CaP précédemment formée. Dans le cas du dopage à l'argent, l'utilisation de solutions d'échange moins concentrées a été nécessaire afin d'éviter la présence de phosphate d'argent menant alors à des taux d'incorporation de l'argent bien plus faibles. En accord avec les essais microbiologiques préliminaires, seul le cuivre montre un effet anti-biofilm mais l'étude doit être poursuivie.

Conclusion générale et perspectives

L'objectif de ces travaux de thèse concernait l'élaboration de revêtements de phosphate de calcium dopés en ions argent, cuivre ou zinc afin de conférer des propriétés d'ostéoconduction et antibactérienne aux implants dentaires en titane. Les enjeux spécifiques étaient de favoriser l'ostéointégration immédiate de ces derniers et de limiter les infections post-opératoires après implantation. Ce travail de thèse s'est décliné en trois étapes. Tout d'abord la caractérisation et la préparation des substrats en titane ont été conduites dans le but de permettre la formation du revêtement par voie aqueuse. Par la suite, deux procédés de revêtements ont été étudiés : les immersions successives et l'électrodéposition. La composition, la microstructure et les caractéristiques physico-chimiques des revêtements de phosphate de calcium obtenus ont été investiguées. Finalement, les revêtements ont été dopés avec des ions connus pour leurs propriétés antibactériennes et des essais préliminaires *in vitro* ont été menés afin d'évaluer les propriétés biologiques de tels revêtements notamment vis-à-vis de la formation d'un biofilm. Ce travail a été réalisé dans le contexte d'un potentiel transfert industriel.

Après avoir caractérisé l'état de référence des implants en titane, un cycle de préparation et traitement de surface a été défini incluant notamment un nouveau protocole d'attaque acide mettant en œuvre un mélange d'acide chlorhydrique et sulfurique. La surface ainsi modifiée présente alors une rugosité comprise entre 1 et 2 µm ainsi qu'une mouillabilité élevée. Ces deux caractéristiques sont considérées comme optimales à la fois pour favoriser l'ostéointégration si l'implant est utilisé sans revêtement mais également pour faciliter la réalisation d'un revêtement par voie aqueuse selon les deux procédés étudiés dans ce travail de thèse. Une couche plus épaisse de TiO_2 en surface de l'implant en titane a aussi été décrite et pourrait permettre une meilleure résistance à la corrosion de l'implant au contact des fluides biologiques. Une attention particulière devra néanmoins être portée à la fragilisation par hydrogène des substrats due à la présence de TiH_2. Malgré le fait qu'aucune fissure ni aucune modification de la dureté n'aient été observées, des études plus poussées seraient nécessaires afin de vérifier la tenue mécanique des substrats après cette attaque acide.

Par la suite, deux procédés opérant à basse température et impliquant des solutions aqueuses ont été étudiés pour réaliser le revêtement de phosphate de calcium. La surface du substrat en titane développée précédemment par attaque acide (mordançage) permet de favoriser la mise en place du revêtement grâce à une mouillabilité élevée et une rugosité adaptée améliorant ainsi le contact et la répartition des solutions aqueuses mises en œuvre avec cette surface. La faisabilité concernant l'élaboration de revêtements de phosphate de calcium sur les implants dentaires a été démontrée pour les deux procédés. Dans tous les cas, des revêtements fins (1 – 2 µm) et adhérents ont été obtenus. L'essai LASAT *(LASer Shock Adhesion Test*), sollicitant l'interface substrat/revêtement grâce à des chocs laser, pourrait néanmoins être utilisé afin de compléter l'étude de l'adhérence des revêtements. L'étape de centrifugation, implémentée dans le procédé d'immersions successives, s'est révélée être une étape cruciale pour la qualité du revêtement finalement obtenu. En effet, les paramètres de centrifugation doivent être adaptés pour chaque géométrie et surface d'échantillon pouvant ainsi présenter une limite pour l'industrialisation du procédé. Le procédé d'électrodéposition, quant à lui, est simple et rapide. Dans cette étude, le temps d'électrodéposition semble être le paramètre majeur influençant les caractéristiques du revêtement formé. De plus, un support multi-échantillons a été développé afin de produire un lot d'échantillons et de débuter un transfert vers l'échelle industrielle. Pour les deux procédés de dépôt, des mécanismes de formation du revêtement ont été proposés. En effet, une interaction forte entre le substrat de titane et notamment sa couche d'oxyde et les ions phosphate et hydrogénophosphate a été mise en évidence pour le procédé d'immersions successives permettant ainsi de fixer ces ions à la surface du substrat pendant la centrifugation afin qu'ils réagissent avec les ions calcium par la suite. Le revêtement formé par électrodéposition semble, quant à lui, davantage dépendant de la cinétique que de la thermodynamique du système ; impliquant alors l'évolution des phases de phosphate de calcium formées avec le temps d'électrodéposition. Le revêtement obtenu par immersions successives se compose d'apatite déficiente en calcium analogue au minéral osseux alors que celui élaboré par électrodéposition est biphasé : un « tapis » de phosphate octocalcique et quelques cristaux de phosphate dicalcique dihydraté sont observés. Ces trois phases de phosphate de calcium sont réactives dans les fluides biologiques et les deux dernières sont considérées comme des précurseurs à la formation d'apatite biomimétique. Elles devraient donc permettre de favoriser la reconstruction osseuse après implantation. Il serait intéressant d'étudier la dissolution des revêtements dans des conditions proches du milieu physiologique afin de quantifier le relargage des ions calcium et phosphate ainsi que la vitesse de dissolution de ces revêtements. De plus, alors qu'un premier test d'attachement cellulaire a été mené sur les échantillons revêtus par électrodéposition, des tests complémentaires d'abord *in vitro* puis *in vivo* vont être menés sur ces mêmes échantillons ainsi que sur ceux réalisés par immersions successives dans le but de confirmer, ou infirmer, notre

hypothèse concernant l'effet de l'ajout du revêtement de phosphate de calcium sur la reconstruction osseuse.

Enfin, le dopage des revêtements élaborés par immersions successives par des ions argent, cuivre ou zinc a mis en évidence plusieurs verrous expérimentaux et a donc mené à des modifications importantes du protocole. Les revêtements dopés obtenus n'ont pas été répétables et une étude plus poussée est nécessaire afin de comprendre plus précisément l'influence de ces ions lors de la formation du revêtement. Néanmoins, il a été démontré que l'argent, le cuivre ou le zinc pouvaient en effet être incorporés dans le revêtement, et ce, à des taux très élevés pour le cuivre et le zinc (40 – 45 mol %) par rapport à la quantité initiale introduite dans le bain (1 mol %). Le dopage des revêtements élaborés par électrodéposition a été réalisé en post-traitement par échange ionique afin d'incorporer les éléments antibactériens sous forme ionique. Une fois encore, l'association de ces ions avec le revêtement a été démontrée et l'effet des concentrations utilisées dans les bains a été investigué. Des taux d'incorporation élevés peuvent également être obtenus pour le cuivre et le zinc (≅ 25 mol %) alors que l'argent mène à la formation de phosphate d'argent si la concentration du bain d'échange est trop élevée ; son incorporation est donc limitée à environ 2 mol %. Afin de mieux comprendre ce phénomène d'échange, une étude de réversibilité des échanges ioniques serait intéressante pour vérifier si ces ions sont présents dans la couche hydratée de l'OCP constituant le revêtement. Les premiers résultats microbiologiques ont montré une efficacité du cuivre pour un taux de dopage d'environ 10 % alors qu'aucune différence significative n'a été observée pour le zinc à un taux identique ni pour l'argent au taux de 0,1 mol %. Des concentrations plus importantes seront donc prochainement testées et la cytotoxicité de ces revêtements sera ensuite évaluée pour les revêtements avec un taux de dopage conduisant à une activité antibiofilm. Il serait également intéressant de réaliser ces tests microbiologiques sur les revêtements dopés élaborés par immersions successives et également d'étudier la libération des ions antibactériens contenus dans ces deux types de revêtements. En effet, le dopage réalisé lors des immersions successives s'effectue dans le volume du revêtement alors que celui des revêtements élaborés par électrodéposition, a priori, uniquement en surface et ne mènent donc peut-être pas à la même cinétique de libération de l'agent antibactérien ni aux mêmes doses libérées. Le dopage réalisé par échange ionique pourrait en effet mener à une libération rapide des ions antibactériens lors du contact de l'implant avec les fluides biologiques qui ne permettrait donc pas de limiter de façon prolongée les infections post-opératoires mais constituerait une dose d'attaque permettant d'éliminer les germes déjà présents. Un co-dopage mettant en œuvre plusieurs agents antibactériens au sein d'un même revêtement pourrait également être réalisé afin de combiner leurs effets vis-à-vis des différentes souches bactériennes potentiellement présentes dans les cas d'infection dentaire ou de développer un effet synergique.

Les deux procédés développés dans cette étude semblent donc être prometteurs pour l'élaboration d'un revêtement mince de phosphate de calcium sur des géométries complexes comme les implants dentaires. L'évaluation complète des propriétés ostéoconductrice et antibactérienne de ces revêtements devra être réalisée afin de comparer les deux types de revêtement obtenus avec ces deux procédés. Effectivement à ce stade de l'étude, le procédé d'électrodéposition semble plus facilement industrialisable car il représente une technologie connue et largement développée dans l'industrie ; il est également rapide et simple à mettre en place.

Pour conclure, le traitement de surface réalisé semble être assez robuste afin de permettre son industrialisation. Celui-ci permet également la mise en place de revêtements de CaP via les deux procédés employés. Alors que la réalisation d'un revêtement à propriétés antibactériennes par le procédé d'immersions successives présente toujours un verrou technologique à lever, le procédé d'électrodéposition permet l'élaboration d'un revêtement répondant au cahier des charges de ce travail et son dopage par des agents ioniques antibactériens est simple à mettre en œuvre.

Références bibliographiques

[1] « Pourquoi choisir les implants dentaires ». [En ligne]. Disponible sur: http://www.straumann.be/fr/patients/une-solution-pour-vous/solutions-de-remplacement/pourquoi-choisir-les-implants-dentaires.html. [Consulté le: 17-août-2016].

[2] N. Wasmer, « Les Différents types de connexions implantaires : Description, avantages, inconvénients et critères de choix », Université de Lorraine, 2013.

[3] B. Herpe, « Connexion Implant-Pilier : analyse des choix strategiques des grands systemes implantaires », Université de Bordeaux, 2014.

[4] J.-L. Guillaume, « La connexion implant-prothèse », *Actual. Odonto-Stomatol.*, n° 264, p. 9-13, 2013.

[5] Ordre des dentistes du Québec, « Le remplacement d'une dent », 2015. [En ligne]. Disponible sur: http://www.maboucheensante.com/fr/bouche101/votre-sante-buccodentaire/anatomie-dent. [Consulté le: 17-août-2016].

[6] D.-W. Song, D.-W. Lee, C.-K. Kim, K.-H. Park et I.-S. Moon, « Comparative analysis of peri-implant marginal bone loss based on microthread location: a 1-year prospective study after loading », *J. Periodontol.*, vol. 80, n° 12, p. 1937-1944, 2009.

[7] L. Rimondini, L. Cerroni, A. Carrassi et P. Torriceni, « Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: An in vitro and in vivo study. », *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, p. 793-798, 2002.

[8] J. B. Brunski, « Biomaterials and biomechanics in dental implant design », *Int J Oral Maxillofac Implants*, vol. 3, n° 2, p. 85–97, 1988.

[9] C. H. Gibbs, P. E. Mahan, H. C. Lundeen, K. Brehnan, E. K. Walsh et W. B. Holbrook, « Occlusal forces during chewing and swallowing as measured by sound transmission », *J. Prosthet. Dent.*, vol. 46, n° 4, p. 443–449, 1981.

[10] « Physical and mechanical requirements for medical device materials », in *Handbook of Materials for Medical Devices*, J.R. Davis, 2003, p. 13-19.

[11] W.-T. Lee, J.-Y. Koak, Y.-J. Lim, S.-K. Kim, H.-B. Kwon et M.-J. Kim, « Stress shielding and fatigue limits of poly-ether-ether-ketone dental implants », *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol. 100B, n° 4, p. 1044-1052, 2012.

[12] N. Meredith, « A review of implant design, geometry and placement », *Appl Osseointgrated Res*, vol. 6, p. 6–12, 2008.

[13] B. D. Ratner, « A Perspective on titanium biocompatibility », in *Titanium in Medicine*, Springer Berlin Heidelberg, 2001, p. 1-12.

[14] L. Sedel et C. Janot, « Bio-materiaux ».

[15] S. R. Paital et N. B. Dahotre, « Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies », *Mater. Sci. Eng. R Rep.*, vol. 66, n° 1–3, p. 1-70, 2009.

[16] S. Govindaraj et M. Muthuraman, « Systematic review on sterilization methods of implants and medical devices », *Int. J. ChemTech Res.*, vol. 8, p. 974-4290, 2015.

[17] « Biomaterials for dental applications », in *Handbook of Materials for Medical Devices*, J.R. Davis, 2003, p. 195-220.

[18] « Metallic materials », in *Handbook of Materials for Medical Devices*, J.R. Davis, 2003, p. 21-50.

[19] Y. Millet, « Corrosion du titane et de ses alliages », *Tech. Ing.*, 2012.

[20] C. N. Elias, J. H. C. Lima, R. Valiev et M. A. Meyers, « Biomedical applications of titanium and its alloys », *Biol. Mater. Sci.*, vol. 60, n° 3, p. 46-49, 2008.

[21] S. Bauer, P. Schmuki, K. von der Mark et J. Park, « Engineering biocompatible implant surfaces », *Prog. Mater. Sci.*, vol. 58, n° 3, p. 261-326, 2013.

[22] M. Saini, Y. Singh, P. Arora, V. Arora et K. Jain, « Implant biomaterials: A comprehensive review », *World J. Clin. Cases*, vol. 3, n° 1, p. 52-57, 2015.

[23] Straumann, « Plus que résistant-Roxolid », 2016.

[24] P. Fourman et P. Royer, *Calcium et tissus osseux : biologie et pathologie*, Flammarion, 1969.

[25] T.-M. G. Chu, S. S.-Y. Liu et W. J. Babler, « Craniofacial biology, orthodontics, and implants », in *Basic and Applied Bone Biology*, Elsevier, 2014, p. 225-242.

[26] J.-B. Vivot, « L'augmentation osseuse pré-implantaire : analyse comparative des techniques et résultats », Université Henri Poincaré Nancy I, Nancy, 2011.

[27] C. Tacquet, « Delais de cicatrisation osseuse et mise en place des implants dentaires : analyse de la littérature », Thèse pour le diplome d'état de docteur en chirurgie dentaire, Université de Nantes, 2013.

[28] M. Del Fabbro, « Effets de la carence en oestrogène sur le remodelage du tissu osseux alvéolaire », Toulouse III Paul Sabatier, 2013.

[29] K. Gulabivala et Y.-L. Ng, « Tooth organogenesis, morphology and physiology », in *Endodontics*, Elsevier, 2014, p. 2-32.

[30] Y.-J. Choi, S. Jun, Y.-D. Song, M.-W. Chang et J. Kwon, « CT Scanning and dental Implant », in *CT scanning - Techniques and Applications*, 2011.

[31] C. Richard, « Implants dentaires : corrosion et traitements de surface », *Tech. Ing.*, 2017.

[32] J. Giudicelli et J. C. Souberbielle, « Le remodelage osseux et l'exploration de l'ostéoporose », *Rev. ACOMEN*, vol. 4, n° 3, p. 251-272, 1998.

[33] C. Niyibizi et D. R. Eyre, « Structural characteristics of cross-linking sites in type V collagen of bone », *Eur. J. Biochem.*, vol. 224, n° 3, p. 943-950, 1994.

[34] B. Depalle, Z. Qin, S. J. Shefelbine et M. J. Buehler, « Influence of cross-link structure, density and mechanical properties in the mesoscale deformation mechanisms of collagen fibrils », *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 52, p. 1-13, 2015.

[35] M. A. Schreiweis, J. P. Butler, N. H. Kulkarni, M. D. Knierman, R. E. Higgs, D. L. Halladay, J. E. Onyia et J. E. Hale, « A proteomic analysis of adult rat bone reveals the presence of cartilage/chondrocyte markers », *J. Cell. Biochem.*, vol. 101, n° 2, p. 466-476, 2007.

[36] G. Schmidmaier, S. Harrmann, J. Green, T. Weber, A. Scharfenberger, N.P. Haas et B. Wildemann, « Quantitative assessment of growth factors in reaming aspirate, iliac crest, and platelet preparation », *Bone*, vol. 39, n° 5, p. 1156-1163, 2006.

[37] C. Rey, C. Combes, C. Drouet, S. Cazalbou, D. Grossin, F. Brouillet et S. Sarda, « Surface properties of biomimetic nanocrystalline apatites; applications in biomaterials », *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.*, vol. 60, n° 3-4, p. 63-73, 2014.

[38] C. Rey, C. Combes, C. Drouet et M. J. Glimcher, « Bone mineral: update on chemical composition and structure », *Osteoporos. Int.*, vol. 20, n° 6, p. 1013-1021, 2009.

[39] S. Cazalbou, D. Eichert, C. Drouet, C. Combes et C. Rey, « Minéralisations biologiques à base de phosphate de calcium », *Comptes Rendus Palevol*, vol. 3, n° 6, p. 563-572, 2004.

[40] M.-C. De Vernejoul et P. Marie, « Cellules osseuses et remodelage osseux », *Médecine/Sciences*, vol. 9, n° 11, p. 1192-1203, 1993.

[41] P. R. Kuzyk et E. H. Schemitsch, « The basic science of peri-implant bone healing », *Indian J. Orthop.*, vol. 45, n° 2, p. 108-115, 2011.

[42] C. C. Villar, G. Huynh-Ba, M. P. Mills et D. L. Cochran, « Wound healing around dental implants », *Endod. Top.*, vol. 25, n° 1, p. 44-62, 2011.

[43] L. Hoff, « Influence des traitements de surface implantaire sur l'accélération de l'ostéo-intégration », 2012.

[44] T. Albrektsson, P.-I. Brånemark, H.-A. Hansson et J. Lindström, « Osseointegrated titanium implants: requirements for ensuring a long-Lasting, direct bone-to-implant anchorage in man », *Acta Orthop.*, vol. 52, n° 2, p. 155-170, 1981.

[45] A. N. Cranin, J. DeGrado, M. Kaufman, M. Baraoidan, R. DiGregorio, G. Batgitis et Z. B. Lee, « Evaluation of the Periotest as a diagnostic tool for dental implants », *J. Oral Implantol.*, vol. 24, n° 3, p. 139–146, 1998.

[46] D. E. Smith et G. A. Zarb, « Criteria for success of osseointegrated endosseous implants », *J. Prostehtic Dent.*, n° 62, p. 567-572, 1989.

[47] K. Karthik, Sivakumar, Sivaraj et V. Thangaswamy, « Evaluation of implant success: A review of past and present concepts », *J. Pharm. Bioallied Sci.*, vol. 5, n° Suppl 1, p. S117-S119, 2013.

[48] T. Albrektsson et A. Wennerberg, « Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them », *Int. J. Prosthodont.*, vol. 17, n° 5, p. 536-543, 2004.

[49] L. Le Guéhennec, A. Soueidan, P. Layrolle et Y. Amouriq, « Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration », *Dent. Mater.*, vol. 23, n° 7, p. 844-854, 2007.

[50] M. Wong, J. Eulenberger, R. Schenk et E. Hunziker, « Effect of surface topology on the osseointegration of implant materials in trabecular bone », *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 29, n° 12, p. 1567-1575, 1995.

[51] A. Wennerberg et T. Albrektsson, « Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review », *Clin. Oral Implants Res.*, vol. 20, p. 172-184, 2009.

[52] A. Wennerberg, T. Albrektsson et B. Andersson, « Bone tissue response to commercially pure titanium implants blasted with fine and coarse particles of aluminum oxide », *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, vol. 11, n° 1, p. 38-45, 1996.

[53] C. N. Elias, Y. Oshida, J. H. C. Lima et C. A. Muller, « Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque », *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 1, n° 3, p. 234-242, 2008.

[54] A. Wennerberg, A. Ektessabi, T. Albrektsson, C. Johansson et B. Andersson, « A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone », *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, vol. 12, n° 4, p. 486-494, 1997.

[55] S. Hansson et M. Norton, « The relation between surface roughness and interfacial shear strength for bone-anchored implants. A mathematical model », *J. Biomech.*, vol. 32, n° 8, p. 829–836, 1999.

[56] A. Abron, M. Hopfensperger, J. Thompson et L. F. Cooper, « Evaluation of a predictive model for implant surface topography effects on early osseointegration in the rat tibia model », *J. Prosthet. Dent.*, vol. 85, n° 1, p. 40-46, 2001.

[57] G. B. Schneider, H. Perinpanayagam, M. Clegg, R. Zaharias, D. Seabold, J. Keller et C. Stanford , « Implant Surface Roughness Affects Osteoblast Gene Expression », *J. Dent. Res.*, vol. 82, n° 5, p. 372-376, 2003.

[58] S. Issa, « Fonctionnalisation de la surface du titane pour les implants dentaires », Paris Est, 2014.

[59] G. Zhao, Z. Schwartz, M. Wieland, F. Rupp, J. Geis-Gerstorfer, D. L. Cochran et B.D. Boyan, « High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 74A, n° 1, p. 49-58, 2005.

[60] S. J. Ferguson, N. Broggini, M. Wieland, M. de Wild, F. Rupp, J. Geis-Gerstorfer, D. I. Cochran et D. Buser, « Biomechanical evaluation of the interfacial strength of a chemically modified sandblasted and acid-etched titanium surface », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 78A, n° 2, p. 291-297, 2006.

[61] N. Donos, S. Hamlet, N. P. Lang, G. E. Salvi, G. Huynh-Ba, D. D. Bosshardt, S. Ivanovski, « Gene expression profile of osseointegration of a hydrophilic compared with a hydrophobic microrough implant surface », *Clin. Oral Implants Res.*, vol. 22, n° 4, p. 365-372, 2011.

[62] « Tarnish and corrosion of dental alloys », in *Handbook of Materials for Medical Devices*, J.R. Davis, 2003, p. 221-281.

[63] « Corrosion of mettalic implants and prosthetic devices », in *Handbook of Materials for Medical Devices*, J.R. Davis, 2003, p. 51-74.

[64] A. M. Ballo, A. Palmquist, O. Omar et W. Xia, *Dental Implant Surfaces-Physicochemical Properties, Biological Performance, and Trends*. INTECH Open Access Publisher, 2011.

[65] S. Mayot, « Pertinence des publications scientifiques en implantologie orale : les états de surface », Henri Poincaré, Nancy.

[66] L. Pawlowski, *Dépôts physiques: techniques, microstructures et propriétés*. PPUR presses polytechniques, 2003.

[67] A. Bagno et C. D. Bello, « Surface treatments and roughness properties of Ti-based biomaterials », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 15, n° 9, p. 935-949, 2004.

[68] Y. Iwaya, M. Machigashira, K. Kanbara, M. Miyamoto, K. Noguchi, Y. Izumi et S. Ban, « Surface properties and biocompatibility of acid-etched titanium », *Dent. Mater. J.*, vol. 27, n° 3, p. 415–421, 2008.

[69] X. P. Jiang, X. Y. Wang, J. X. Li, D. Y. Li, C. S. Man, M. J. Shepard et T. Zhai, « Enhancement of fatigue and corrosion properties of pure Ti by sandblasting », *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 429, n° 1, p. 30-35, 2006.

[70] A. Piattelli, « Residual aluminum oxide on the surface of titanium implants has no effect on osseointegration », *Biomaterials*, vol. 24, n° 22, p. 4081-4089, 2003.

[71] A. Mousa, « L'état de surface du titane et de ses alliages en implantologie - comparaison des implants dentaires de marques différentes », pour le dimplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire, Université de Lorraine, 2012.

[72] S. Ban, Y. Iwaya, H. Kono, et H. Sato, « Surface modification of titanium by etching in concentrated sulfuric acid », *Dent. Mater.*, vol. 22, n° 12, p. 1115-1120, 2006.

[73] C. Combes et C. Rey, « Biomatériaux à base de phosphates de calcium », *Tech. Ing.*, 2013.

[74] A. Malhotra et P. Habibovic, « Calcium phosphates and angiogenesis: Implications and advances for bone regeneration », *Trends Biotechnol.*, vol. 34, n° 12, p. 983-992, 2016.

[75] A. M. Ballo, A. Palmquist, O. Omar et W. Xia, « Dental implant surfaces - Physicochemical properties, biological performance, and trends », in *Implant Dentistry - A Rapidly Evolving Practice*, InTech., Prof. Ilser Turkyilmaz, 2011.

[76] K.-Y. Hung, S.-C. Lo, C.-S. Shih, Y.-C. Yang, H.-P. Feng et Y.-C. Lin, « Titanium surface modified by hydroxyapatite coating for dental implants », *Surf. Coat. Technol.*, vol. 231, p. 337-345, 2013.

[77] P. Layrolle, « 1.16 Calcium Phosphate Coatings », in *Comprehensive Biomaterials II*, vol. 1, Elsevier, 2017, p. 360-367.

[78] S. R. Paital et N. B. Dahotre, « Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies », *Mater. Sci. Eng. R*, vol. 66, n° 1–3, p. 1-70, 2009.

[79] J. C. Elliott, *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates*. Elsevier, 1994.

[80] K. De Groot, J. G. C. Wolke et J. A. Jansen, « Calcium phosphate coatings for medical implants », *Proc. Inst. Mech. Eng. [H]*, vol. 212, n° 2, p. 137–147, 1998.

[81] M. Gallo, S. Tadier, S. Meille et J. Chevalier, « Resorption of calcium phosphate materials: Considerations on the in vitro evaluation », *J. Eur. Ceram. Soc.*, 2017.

[82] J.-S. Bow, S.-C. Liou et S.-Y. Chen, « Structural characterization of room-temperature synthesized nano-sized β-tricalcium phosphate », *Biomaterials*, vol. 25, n° 16, p. 3155-3161, 2004.

[83] L. Galea, M. Bohner, J. Thuering, N. Doebelin, T. A. Ring, C. G. Aneziris, T. Graule, « Growth kinetics of hexagonal sub-micrometric β-tricalcium phosphate particles in ethylene glycol », *Acta Biomater.*, vol. 10, n° 9, p. 3922-3930, 2014.

[84] « Ceramic materials », in *Handbook of Materials for Medical Devices*, J.R. Davis, 2003, p. 137-150.

[85] C. Combes, R. Bareille et C. Rey, « Calcium carbonate–calcium phosphate mixed cement compositions for bone reconstruction », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 79A, n° 2, p. 318-328, 2006.

[86] P. Habibovic, F. Barrère, C. A. Van Blitterswijk, K. de Groot et P. Layrolle, « Biomimetic hydroxyapatite coating on metal implants », *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 85, n° 3, p. 517-522, 2002.

[87] F. Barrere, P. Layrolle, C. A. Van Blitterswijk et K. De Groot, « Biomimetic coatings on titanium: a crystal growth study of octacalcium phosphate », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 12, n° 6, p. 529–534, 2001.

[88] R. A. Surmenev, M. A. Surmeneva et A. A. Ivanova, « Significance of calcium phosphate coatings for the enhancement of new bone osteogenesis – A review », *Acta Biomater.*, vol. 10, n° 2, p. 557-579, 2014.

[89] F. Barrere, P. Layrolle, C. A. Van Blitterswijk et K. De Groot, « Biomimetic calcium phosphate coatings on Ti6Al4V: a crystal growth study of octacalcium phosphate and inhibition by Mg^{2+} and HCO_3^- », *Bone*, vol. 25, n° 2, p. 107S–111S, 1999.

[90] T. Taguchi, Y. Muraoka, H. Matsuyama, A. Kishida et M. Akashi, « Apatite coating on hydrophilic polymer-grafted poly(ethylene) films using an alternate soaking process », *Biomaterials*, vol. 22, n° 1, p. 53-58, 2000.

[91] D. G. T. Strange et M. L. Oyen, « Biomimetic bone-like composites fabricated through an automated alternate soaking process », *Acta Biomater.*, vol. 7, n° 10, p. 3586-3594, 2011.

[92] N. Koju, P. Sikder, Y. Ren, H. Zhou et S. B. Bhaduri, « Biomimetic coating technology for orthopedic implants », *Curr. Opin. Chem. Eng.*, vol. 15, p. 49-55, 2017.

[93] A. Adawy et W. I. Abdel-Fattah, « An efficient biomimetic coating methodology for a prosthetic alloy », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, n° 3, p. 1813-1818, 2013.

[94] H. Ijima, T. Ohchi, T. Ono et K. Kawakami, « Hydroxyapatite for use as an animal cell culture substratum obtained by an alternate soaking process », *Biochem. Eng. J.*, vol. 20, n° 2, p. 155-161, 2004.

[95] H. Izawa, S. Nishino, H. Maeda, K. Morita, S. Ifuku, M. Morimoto, H. Saimoto, J. I. Kadokawa, « Mineralization of hydroxyapatite upon a unique xanthan gum hydrogel by an alternate soaking process », *Carbohydr. Polym.*, vol. 102, p. 846-851, 2014.

[96] W. Tachaboonyakiat, T. Seriza et M. Akashi, « Hydroxyapatite formation on/in biodegradable chitosan hydrogels by an alternate soaking process », *Polym. J.*, vol. 33, n° 2, p. 177-181, 2001.

[97] K. Suzuki, T. Yumura, M. Mizuguchi, T. Taguchi, K. Sato, J. Tanaka, M. Akashi, « Apatite-silica gel composite materials prepared by a new alternate soaking process », *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 21, n° 1, p. 55–63, 2001.

[98] D. Ogomi, T. Serizawa et M. Akashi, « Bioinspired organic-inorganic composite materials prepared by an alternate soaking process as a tissue reconstitution matrix », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 67A, n° 4, p. 1360-1366, 2003.

[99] J. Watanabe et M. Akashi, « Integration approach for developing a high-performance biointerface: Sequential formation of hydroxyapatite and calcium carbonate by an improved alternate soaking process », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 255, n° 2, p. 344-349, 2008.

[100] T. Furuzono, T. Taguchi, A. Kishida, M. Akashi et Y. Tamada, « Preparation and characterization of apatite deposited on silk fabric using an alternate soaking process », *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 50, n° 3, p. 344-352, 2000.

[101] H. Kono, M. Miyamoto et S. Ban, « Bioactive apatite coating on titanium using an alternate soaking process », *Dent. Mater. J.*, vol. 26, n° 2, p. 186-192, 2007.

[102] J. C. Góes, S. Figueiró, A. M. Oliveira, A. A. M. Macedo, C. C. Silva, N. M. P. S. Ricardo, A. S. B. Sombra, « Apatite coating on anionic and native collagen films by an alternate soaking process », *Acta Biomater.*, vol. 3, n° 5, p. 773-778, 2007.

[103] V. Q. Le, G. Pourroy, A. Cochis, L. Rimondini, W. I. Abdel-Fattah, H. I. Mohammed et A. Carradò, « Alternative technique for calcium phosphate coating on titanium alloy implants », *Biomatter*, vol. 4, p. e28534-1-e28534-8, 2014.

[104] N. Eliaz, « Electrocrystallization of Calcium Phosphates », *Isr. J. Chem.*, vol. 48, n° 3-4, p. 159-168, 2008.

[105] Drevet Richard, « Élaboration de nouveaux revêtements prothétiques phosphocalciques par électrodéposition : caractérisation physico-chimique et structurale », Université de Reims Champagne-Ardenne, 2011.

[106] E. Noam et E. Moshe, « Electrochemical processes of nucleation and growth of hydroxyapatite on titanium supported by real-time electrochemical atomic force microscopy », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 80A, n° 3, p. 621-634, 2006.

[107] D. Lakstein, W. Kopelovitch, Z. Barkay, M. Bahaa, D. Hendel et N. Eliaz, « Enhanced osseointegration of grit-blasted, NaOH-treated and electrochemically hydroxyapatite-coated Ti–6Al–4V implants in rabbits », *Acta Biomater.*, vol. 5, n° 6, p. 2258-2269, 2009.

[108] E. A. Abdel-Aal, D. Dietrich, S. Steinhaeuser et B. Wielage, « Electrocrystallization of nanocrystallite calcium phosphate coatings on titanium substrate at different current densities », *Surf. Coat. Technol.*, vol. 202, n° 24, p. 5895-5900, 2008.

[109] R. Drevet, F. Velard, S. Potiron, D. Laurent-Maquin et H. Benhayoune, « In vitro dissolution and corrosion study of calcium phosphate coatings elaborated by pulsed electrodeposition current on Ti6Al4V substrate », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 22, n° 4, p. 753-761, 2011.

[110] N. Dumelié, H. Benhayoune, C. Rousse-Bertrand, S. Bouthors, A. Perchet, L. Wortham, J. Douglade, D. Laurent-Maquin et G. Balossier, « Characterization of electrodeposited calcium phosphate coatings by complementary scanning electron microscopy and scanning-transmission electron microscopy associated to X-ray microanalysis », *Thin Solid Films*, vol. 492, n° 1–2, p. 131-139, 2005.

[111] T. Mokabber, L. Q. Lu, P. van Rijn, A. I. Vakis et Y. T. Pei, « Crystal growth mechanism of calcium phosphate coatings on titanium by electrochemical deposition », *Surf. Coat. Technol.*, vol. 334, p. 526-535, 2018.

[112] W. Ye et X.-X. Wang, « Ribbon-like and rod-like hydroxyapatite crystals deposited on titanium surface with electrochemical method », *Mater. Lett.*, vol. 61, n° 19–20, p. 4062-4065, 2007.

[113] M. Ma, W. Ye et X.-X. Wang, « Effect of supersaturation on the morphology of hydroxyapatite crystals deposited by electrochemical deposition on titanium », *Mater. Lett.*, vol. 62, n° 23, p. 3875-3877, 2008.

[114] N. Eliaz et T. M. Sridhar, « Electrocrystallization of Hydroxyapatite and Its Dependence on Solution Conditions », *Cryst. Growth Des.*, vol. 8, n° 11, p. 3965-3977, 2008.

[115] J. M. Zhang, C. J. Lin, Z. D. Feng et Z. W. Tian, « Mechanistic studies of electrodeposition for bioceramic coatings of calcium phosphates by an in situ pH-microsensor technique », *J. Electroanal. Chem.*, vol. 452, n° 2, p. 235-240, 1998.

[116] R. Drevet, A. Viteaux, J. C. Maurin et H. Benhayoune, « Human osteoblast-like cells response to pulsed electrodeposited calcium phosphate coatings », *RSC Adv.*, vol. 3, n° 28, p. 11148, 2013.

[117] H. Benhayoune, R. Drevet, J. Fauré, S. Potiron, T. Gloriant, H. Oudadesse et D. Laurent-Maquin, « Elaboration of Monophasic and Biphasic Calcium Phosphate Coatings on Ti6Al4V Substrate by Pulsed Electrodeposition Current », *Adv. Eng. Mater.*, vol. 12, n° 6, p. B192-B199, 2010.

[118] D. Gopi, J. Indira et L. Kavitha, « A comparative study on the direct and pulsed current electrodeposition of hydroxyapatite coatings on surgical grade stainless steel », *Surf. Coat. Technol.*, vol. 206, n° 11-12, p. 2859-2869, 2012.

[119] R. Drevet et H. Benhayoune, « Pulsed electrodeposition for the synthesis of strontium-substituted calcium phosphate coatings with improved dissolution properties », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, n° 7, p. 4260-4265, 2013.

[120] M. A. Lopez-Heredia, P. Weiss et P. Layrolle, « An electrodeposition method of calcium phosphate coatings on titanium alloy », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 18, n° 2, p. 381-390, 2007.

[121] A. D. Pye, D. E. A. Lockhart, M. P. Dawson, C. A. Murray et A. J. Smith, « A review of dental implants and infection », *J. Hosp. Infect.*, vol. 72, n° 2, p. 104-110, 2009.

[122] P. A. Norowski et J. D. Bumgardner, « Biomaterial and antibiotic strategies for peri-implantitis: A review », *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol. 88B, n° 2, p. 530-543, 2008.

[123] J. Prathapachandran et N. Suresh, « Management of peri-implantitis », *Dent. Res. J.*, vol. 9, n° 5, p. 516-521, 2012.

[124] S. Ferraris et S. Spriano, « Antibacterial titanium surfaces for medical implants », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 61, p. 965-978, 2016.

[125] L. Zhao, P. K. Chu, Y. Zhang et Z. Wu, « Antibacterial coatings on titanium implants », *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol. 91B, n° 1, p. 470-480, 2009.

[126] A. Tanner, M. F. J. Maiden, K. Lee, L. B. Shulman et H. P. Weber, « Dental Implant Infections », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 25, n° Supplement 2, p. S213-S217, 1997.

[127] E. J. Tobin, « Recent coating developments for combination devices in orthopedic and dental applications: A literature review », *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 112, p. 88-100, 2017.

[128] J. S. Lee et W. L. Murphy, « Functionalizing calcium phosphate biomaterials with antibacterial silver particles », *Adv. Mater.*, vol. 25, n° 8, p. 1173-1179, 2013.

[129] A. Simchi, E. Tamjid, F. Pishbin et A. R. Boccaccini, « Recent progress in inorganic and composite coatings with bactericidal capability for orthopaedic applications », *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 7, n° 1, p. 22-39, 2011.

[130] M. Stigter, J. Bezemer, K. de Groot et P. Layrolle, « Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy », *J. Controlled Release*, vol. 99, n° 1, p. 127-137, 2004.

[131] A. B. G. Lansdown, « A pharmacological and toxicological profile of silver as an antimicrobial agent in medical devices », *Adv. Pharmacol. Sci.*, vol. 2010, p. 1-16, 2010.

[132] X. Bai, K. More, C. M. Rouleau et A. Rabiei, « Functionally graded hydroxyapatite coatings doped with antibacterial components », *Acta Biomater.*, vol. 6, n° 6, p. 2264-2273, 2010.

[133] W. Chen, Y. Liu, H. S. Courtney, M. Bettenga, C. M. Agrawal, J. D. Bumgardner, J. L. Ong, « In vitro anti-bacterial and biological properties of magnetron co-sputtered silver-containing hydroxyapatite coating », *Biomaterials*, vol. 27, n° 32, p. 5512-5517, 2006.

[134] M. Furko, Y. Jiang, T. A. Wilkins et C. Balázsi, « Electrochemical and morphological investigation of silver and zinc modified calcium phosphate bioceramic coatings on metallic implant materials », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 62, p. 249-259, 2016.

[135] H. B. Lu, C. T. Campbell, D. J. Graham et B. D. Ratner, « Surface Characterization of Hydroxyapatite and Related Calcium Phosphates by XPS and TOF-SIMS », *Anal. Chem.*, vol. 72, n° 13, p. 2886-2894, 2000.

[136] Y. Ando, H. Miyamoto, I. Noda, N. Sakurai, T. Akiyama, Y. Yonekura, T. Shimazaki, M. Miyazaki, M. Mawatari, T. Hotokebuchi, « Calcium phosphate coating containing silver shows high antibacterial activity and low cytotoxicity and inhibits bacterial adhesion », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 30, n° 1, p. 175-180, 2010.

[137] I. Noda, F. Miyaji, Y. Ando, H. Miyamoto, T. Shimazaki, Y. Yonekura, M. Miyazaki, M. Mawatari et T. Hotokebuchi, « Development of novel thermal sprayed antibacterial coating and evaluation of release properties of silver ions », *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol. 89B, n° 2, p. 456-465, 2009.

[138] F. Bir, H. Khireddine, A. Touati, D. Sidane, S. Yala et H. Oudadesse, « Electrochemical depositions of fluorohydroxyapatite doped by Cu^{2+}, Zn^{2+}, Ag^{+} on stainless steel substrates », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 258, n° 18, p. 7021-7030, 2012.

[139] M. Shirkhanzadeh, M. Azadegan et G. Q. Liu, « Bioactive delivery systems for the slow release of antibiotics: incorporation of Ag+ ions into micro-porous hydroxyapatite coatings », *Mater. Lett.*, vol. 24, n° 1, p. 7-12, 1995.

[140] Y. Huang, X. Zhang, R. Zhao, H. Mao, Y. Yan et X. Pang, « Antibacterial efficacy, corrosion resistance, and cytotoxicity studies of copper-substituted carbonated hydroxyapatite coating on titanium substrate », *J. Mater. Sci.*, vol. 50, n° 4, p. 1688-1700, 2015.

[141] C. Wolf-Brandstetter, S. Oswald, S. Bierbaum, H.-P. Wiesmann et D. Scharnweber, « Influence of pulse ratio on codeposition of copper species with calcium phosphate coatings on titanium by means of electrochemically assisted deposition: influence of pulse ratio on codeposition of Cu(I) species with CPP », *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol. 102, n° 1, p. 160-172, 2014.

[142] A. Ito, K. Ojima, H. Naito, N. Ichinose et T. Tateishi, « Preparation, solubility, and cytocompatibility of zinc-releasing calcium phosphate ceramics », *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 50, n° 2, p. 178-183, 2000.

[143] H. Kawamura, A. Ito, S. Miyakawa, P. Layrolle, K. Ojima, N. Ichinose et T. Tateishi, « Stimulatory effect of zinc-releasing calcium phosphate implant on bone formation in rabbit femora », *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 50, n° 2, p. 184-190, 2000.

[144] E. Boanini, M. Gazzano et A. Bigi, « Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature », *Acta Biomater.*, vol. 6, n° 6, p. 1882-1894, 2010.

[145] Y. Huang, X. Zhang, H. Mao, T. Li, R. Zhao, Y. Yan et X. Pang, « Osteoblastic cell responses and antibacterial efficacy of Cu/Zn co-substituted hydroxyapatite coatings on pure titanium using electrodeposition method », *RSC Adv.*, vol. 5, n° 22, p. 17076-17086, 2015.

[146] Wheelabrator Group, « Fused alumina blast media ». Wheelabrator Group.

[147] N.-L. Do, « Etude de l'oxydation thermique du titane et du zirconium sous irradiation aux ions d'argon dans le domaine du MeV (E≤ 15 MeV) », Ecole Polytechnique X, 2012.

[148] A.V. Naumkin, A. Kraut-Vass, S.W. Gaarenstroom et C.J. Powell, « NIST X-ay Photoelectron Spectroscopy Database », *NIST Standard Reference Database 20, Version 4.1*, 2012. [En ligne]. Disponible sur: https://srdata.nist.gov/xps/elm_Spectra_query.aspx?Elm1=C&LD1=1s&Elm2=C&LD2=2s&Elm3=&LD3=&Elm4=&LD4=&sType=PE. [Consulté le: 10-avr-2018].

[149] T. Sultana, G. L. Georgiev, G. Auner, G. Newaz, H. J. Herfurth et R. Patwa, « XPS analysis of laser transmission micro-joint between poly (vinylidene fluoride) and titanium », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 255, n° 5, p. 2569-2573, 2008.

[150] L. F. Cooper, Y. Zhou, J. Takebe, J. Guo, A. Abron, A. Holmén et J. Ellingsen, « Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO_2 grit-blasted c.p. titanium endosseous implants », *Biomaterials*, vol. 27, n° 6, p. 926-936, 2006.

[151] T. Berglundh, I. Abrahamsson, J.-P. Albouy et J. Lindhe, « Bone healing at implants with a fluoride-modified surface: an experimental study in dogs », *Clin. Oral Implants Res.*, vol. 18, n° 2, p. 147-152, 2007.

[152] J. E. Ellingsen, C. B. Johansson, A. Wennerberg et A. Holmén, « Improved retention and bone to implant contact with fluoride-modified titanium implants », *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, vol. 19, n° 5, p. 659-666, 2004.

[153] M. A. Ben Abdelwahed, « Mécanismes d'imprégnation en milieux fibreux : modélisation et application à la mise en oeuvre des matériaux composites à fibres longues », Université du Havre, Le Havre, 2011.

[154] D. K. Owens et R. C. Wendt, « Estimation of the surface free energy of polymers », *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 13, n° 8, p. 1741-1747, 1969.

[155] P. Eggli, « Angles de raccordement et énergie de surface : introduction », *Litt. Tech. Chim.*, 2008.

[156] M. Nissa, « Surfaces très hydrophobes ou très hydrophiles : préparation et application ». Biophy Research, 2015.

[157] E. D. de Avila, B. P. Lima, T. Sekiya, Y. Torii, T. Ogawa, W. Shi, R. Lux, « Effect of UV-photofunctionalization on oral bacterial attachment and biofilm formation to titanium implant material », *Biomaterials*, vol. 67, p. 84-92, 2015.

[158] C. Klang, « Effects of UV-exposure of titanium-based dental implant materials », Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden, Master's thesis, 2010.

[159] M. Roy, A. Pompella, J. Kubacki, J. Szade, R. A. Roy et W. Hedzelek, « Photofunctionalization of titanium: an alternative explanation of its chemical-physical mechanism », *Plos One*, vol. 11, n° 6, 2016.

[160] F. Barrère, « Biomimetic calcium phosphate coatings: physicochemistry and biological activity », University of Twente, Enschede, 2002.

[161] Federation of european producers of abarsives, « FEPA ABRASIVES > Abrasives > Grains ». [En ligne]. Disponible sur: https://www.fepa-abrasives.com/abrasive-products/grains. [Consulté le: 05-mai-2018].

[162] J. Ouyang, X. Sun et X. Chen, « Method for constructing micrometer/nanometer hierarchical structure with super hydrophilicity on surface of titanium dental implant », CN105441960 (A), 30-mars-2016.

[163] A. J. Denzer et J. P. Simpson, « Osteophilic implants », US 2004/0210309 A1, 2004.

[164] A. Wennerberg et T. Albrektsson, « Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review », *Clin. Oral Implants Res.*, vol. 20, p. 172-184, 2009.

[165] T. Hayakawa, M. Kawashita et G. H. Takaoaka, « Coating of hydroxyapatite films on titanium substrates by electrodeposition under pulse current », *J. Ceram. Soc. Jpn.*, vol. 116, n° 1349, p. 68-73, 2008.

[166] N. Vandecandelaère, « Élaboration et caractérisation de biomatériaux osseux innovants à base d'apatites phospho-calciques dopées », Université de Toulouse, 2012.

[167] C. Rey, O. Marsan, C. Combes, C. Drouet, D. Grossin et S. Sarda, « Characterization of calcium phosphates using vibrational spectroscopies », in *Advances in Calcium Phosphate Biomaterials*, Springer., B. Ben-Nissan, Éd. .

[168] I. Petrov, B. Soptrajanov, N. Fuson et J. R. Lawson, « Infra-red investigation of dicalcium phosphates », *Spectrochim. Acta*, vol. 23A, p. 2637-2646, 1967.

[169] B. O. Fowler, M. Markovic et W. E. Brown, « Octacalcium phosphate. 3. Infrared and Raman vibrational spectra », *Chem. Mater.*, vol. 5, n° 10, p. 1417-1423, 1993.

[170] C. C. Chusuei, D. W. Goodman, M. J. Van Stipdonk, D. R. Justes et E. A. Schweikert, « Calcium phosphate phase identification using XPS and Time-of-Flight Cluster SIMS », *Anal. Chem.*, vol. 71, n° 1, p. 149-153, 1999.

[171] J. D. Long, S. Xu, J W. Cai, N. Jiang, J. H. Lu, K. N. Ostrikov, C. H. Diong, « Structure, bonding state and in-vitro study of Ca–P–Ti film deposited on Ti6Al4V by RF magnetron sputtering », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 20, n° 1–2, p. 175-180, 2002.

[172] C. E. Myers, H. F. Franzen et J. W. Anderegg, « X-ray photoelectron spectra and bonding in transition-metal phosphides », *Inorg. Chem.*, vol. 24, n° 12, p. 1822-1824, 1985.

[173] S. Baunack, S. Oswald et D. Scharnweber, « Depth distribution and bonding states of phosphorus implanted in titanium investigated by AES, XPS and SIMS », *Surf. Interface Anal.*, vol. 26, n° 6, p. 471-479, 1998.

[174] P. A. Connor et A. J. McQuillan, « Phosphate Adsorption onto TiO_2 from aqueous solutions: an in situ Internal Reflection Infrared Spectroscopic study », *Langmuir*, vol. 15, n° 8, p. 2916-2921, 1999.

[175] J. Coreño, A. Martínez, O. Coreño, A. Bolarín et F. Sánchez, « Calcium and phosphate adsorption as initial steps of apatite nucleation on sol-gel-prepared titania surface», *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 64A, n° 1, p. 131-137, 2003.

[176] K. I. Hadjiivanov, D. G. Klissurski et A. A. Davydov, « Study of phosphate-modified TiO_2 (anatase) », *J. Catal.*, vol. 116, n° 2, p. 498-505, 1989.

[177] K. E. Healy et P. Ducheyne, « Hydration and preferential molecular adsorption on titanium in vitro », *Biomaterials*, vol. 13, n° 8, p. 553-561, 1992.

[178] X. Liu, P. Chu et C. Ding, « Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications », *Mater. Sci. Eng. R Rep.*, vol. 47, n° 3-4, p. 49-121, 2004.

[179] M. Kosmulski, « pH-dependent surface charging and points of zero charge. IV. Update and new approach », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 337, n° 2, p. 439-448, 2009.

[180] T. Hanawa et M. Ota, « Characterization of surface film formed on titanium in electrolyte using XPS », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 55, n° 4, p. 269-276, 1992.

[181] C. S. Kim et P. Ducheyne, « Compositional variations in the surface and interface of calcium phosphate ceramic coatings on Ti and Ti-6Al-4V due to sintering and immersion », *Biomaterials*, vol. 12, n° 5, p. 461-469, 1991.

[182] S. Durdu, Ö. F. Deniz, I. Kutbay et M. Usta, « Characterization and formation of hydroxyapatite on Ti6Al4V coated by plasma electrolytic oxidation », *J. Alloys Compd.*, vol. 551, p. 422-429, 2013.

[183] H. Wang, S. Zhu, L. Wang, Y. Feng, X. Ma et S. Guan, « Formation mechanism of Ca-deficient hydroxyapatite coating on Mg–Zn–Ca alloy for orthopaedic implant », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 307, p. 92-100, 2014.

[184] X. Lu et Y. Leng, « Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid », *Biomaterials*, vol. 26, n° 10, p. 1097-1108, 2005.

[185] H. Jiang et X.-Y. Liu, « Principles of mimicking and engineering the self-organized structure of hard tissues », *J. Biol. Chem.*, vol. 279, n° 40, p. 41286-41293, 2004.

[186] N. Metoki, S.-I. Baik, D. Isheim, D. Mandler, D. N. Seidman et N. Eliaz, « Atomically resolved calcium phosphate coating on a gold substrate », *Nanoscale*, 2018.

[187] N. Eliaz, W. Kopelovitch, L. Burstein, E. Kobayashi et T. Hanawa, « Electrochemical processes of nucleation and growth of calcium phosphate on titanium supported by real-time quartz crystal microbalance measurements and X-ray photoelectron spectroscopy analysis », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 89A, n° 1, p. 270-280, 2009.

[188] G. Penel, N. Leroy, P. Van Landuyt, B. Flautre, P. Hardouin, J. Lemaître et G. Leroy, « Raman microspectrometry studies of brushite cement: in vivo evolution in a sheep model », *Bone*, vol. 25, n° 2, p. 81S-84S, 1999.

[189] P. Habibovic, J. Li, C. M. van der Valk, G. Meijer, P. Layrolle, C. A. van Blitterswijk et K. de Groot, « Biological performance of uncoated and octacalcium phosphate-coated Ti6Al4V », *Biomaterials*, vol. 26, n° 1, p. 23-36, 2005.

[190] U. Landegren, « Measurement of cell numbers by means of the endogenous enzyme hexosaminidase. Applications to detection of lymphokines and cell surface antigens », *J. Immunol. Methods*, vol. 67, n° 2, p. 379-388, 1984.

[191] Alfa Aesar, « Fiche de données sécurité - Nitrate de cuivre hemi(pentahydraté) ».

[192] ThermoFisher Scientific, « Fiche de données sécurité - Nitrate de zinc hexahydraté ».

[193] ThermoFisher Scientific, « Fiche de données sécurité - Nitrate d'argent ».

[194] Wired Chemist, « Solubility Product Constants, Ksp ». [En ligne]. Disponible sur: http://www.wiredchemist.com/chemistry/data/solubility-product-constants. [Consulté le: 12-juin-2018].

[195] « Ksp Table ». [En ligne]. Disponible sur: https://owl.oit.umass.edu/departments/Chemistry/appendix/ksp.html. [Consulté le: 12-juin-2018].

[196] Wired Chemist, « Solubility data ». [En ligne]. Disponible sur: http://www.wiredchemist.com/chemistry/data/solubility-data. [Consulté le: 28-juill-2018].

[197] R. S. W. Braithwaite et G. Ryback, « Reichenbachite from Cornwall and Portugal », *Mineral. Mag.*, vol. 58, n° 392, p. 449-454, 1994.

[198] W. Martens et R. L. Frost, « An infrared spectroscopic study of the basic copper phosphate minerals: Cornetite, libethenite, and pseudomalachite », *Am. Mineral.*, vol. 88, n° 1, p. 37-46, 2003.

[199] Handbook, « Table des potentiels standard ». [En ligne]. Disponible sur: http://handbook.free.fr/redox%20alphabetique.htm. [Consulté le: 12-juin-2018].

[200] S. Cazalbou, D. Eichert, X. Ranz, C. Drouet, C. Combes, M. F. Harmand et C. Rey, « Ion exchanges in apatites for biomedical application », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 16, n° 5, p. 405-409, 2005.

[201] C. Drouet, M.-T. Carayon, C. Combes et C. Rey, « Surface enrichment of biomimetic apatites with biologically-active ions Mg^{2+} and Sr^{2+}: A preamble to the activation of bone repair materials », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 28, n° 8, p. 1544-1550, 2008.

[202] « Ksp solubility product constants of many popular salts ». [En ligne]. Disponible sur: http://www.solubilityofthings.com/water/ions_solubility/ksp_chart.php. [Consulté le: 30-juill-2018].

[203] M. Ditria, « Solubility product constants », *Faculté Technologique de Chimie a Split*. [En ligne]. Disponible sur: http://www.ucd.ac.ma/gptn/Files/Other/utilitaires/utilitaires/periodni/fr/abc/kpt.html. [Consulté le: 30-juill-2018].

[204] Wired Chemist, « Metallic, Covalent and Ionic Radii ». [En ligne]. Disponible sur: http://www.wiredchemist.com/chemistry/data/metallic-radii. [Consulté le: 15-juin-2018].

[205] B. Guggenheim, E. Giertsen, P. Schüpbach et S. Shapiro, « Validation of an in vitro biofilm model of supragingival plaque », *J. Dent. Res.*, vol. 80, n° 1, p. 363-370, 2001.

[206] S. Shapiro, E. Giertsen et B. Guggenheim, « An in vitro oral biofilm model for comparing the efficacy of antimicrobial mouthrinses », *Caries Res.*, vol. 36, n° 2, p. 93-100, 2002.

[207] T. Thurnheer, R. Gmur, S. Shapiro et B. Guggenheim, « Mass transport of macromolecules within an in vitro model of supragingival plaque », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 69, n° 3, p. 1702-1709, 2003.

Annexes

A. Matériels et méthodes

A-1. Produits utilisés

Les acides et sels commerciaux utilisés pour les différentes études sont les suivants :

- *Préparation de la surface des substrats par attaque acide :* HCl 37 % (AnalaR Normapur, 36,4 %, Prolabo VWR Chemicals) ; H_2SO_4 95 % (AnalaR Normapur, 96,3 %, Prolabo VWR Chemicals) ; HNO_3 69% (AnalaR Normapur, 69%, Prolabo VWR Chemicals) ; $NaHCO_3$ (ACS, 99,7-100,3%, Carlo Erba).

- *Elaboration de revêtements par immersions successives :* $Na_3PO_4,12H_2O$ (GPR Rectapur, 101%, Prolabo VWR Chemicals); $CaCl_2,2H_2O$ (AnalaR Normapur, 101,0%, Prolabo VWR Chemicals) ; $Ca(NO_3)_2,4H_2O$ (pour analyses, 99,0-102,0 %, Merck).

- *Elaboration de revêtements par électrodéposition :* $NH_4H_2PO_4$ (ACS, min 99%, analaR Normapur, min 99%, Prolabo VWR Chemicals); $Ca(NO_3)_2,4H_2O$ (pour analyses, 99,0-102,0 % Merck).

- Dopage des revêtements en éléments antibactériens : $AgNO_3$ (ACS, 99,9+% (metal basis), Alfa Aesar) ; $Cu(NO_3)_2$, $2,5H_2O$ (ACS, 98,0-102,0%, Alfe Aesar), $Zn(NO_3)_2$, $6H_2O$ (99% (metal basis), Alfa Aesar)

Des poudres de référence synthétisées au laboratoire ont également été utilisées dans ce travail : phosphate dicalcique dihydraté (DCPD), phosphate octocalcique (OCP), apatite nanocristalline (ns-HAP) et hydroxyapatite (HAP).

A-2. Préparation des échantillons et techniques de caractérisation mises en œuvre

A-2-1. Enrobage et polissage des échantillons

Pour certaines des techniques de caractérisation présentées par la suite, les échantillons ont besoin d'être enrobés et/ou polis.

Les échantillons non revêtus sont enrobés à chaud dans une résine époxy alors que les échantillons revêtus sont enrobés dans une résine à froid sous vide afin de ne pas modifier le revêtement avec la température mise en œuvre lors de l'enrobage à chaud.

Tous les échantillons ayant besoin d'être polis, enrobés ou non, suivent la même séquence de polissage à savoir l'utilisation de papier de carbure de silicium (SiC) du grade P320 à P2400 en finissant par une pâte diamantée de diamètre 3 µm et une solution de silice colloïdale (OP-S) de diamètre 0,04 µm diluée à l'eau dans les proportions 1/3 d'OPS et 2/3 d'eau.

A-2-2. Caractérisation des propriétés physiques des matériaux étudiés

A-2-2-a. Topographie de surface

Microscopie Electronique à Balayage (MEB) :

La morphologie de surface des échantillons a été observée via un microscope électronique à balayage. Les images MEB réalisées en mode électrons secondaires ont été obtenues grâce à un microscope *LEO 435VP*. Elles ont été enregistrées avec une distance de travail de 15 mm, une tension d'accélération de 15 KeV et un courant de sonde de 150 pA. Les échantillons ont préalablement été fixés au support en aluminium grâce à un scotch carbone double face et n'ont pas été métallisés afin de pouvoir poursuivre les caractérisations physico-chimiques de l'échantillon après observations au MEB. Cette technique a permis l'observation de la morphologie de la surface des échantillons après les différents traitements de surface ainsi que l'étude de la morphologie et de l'homogénéité des revêtements de CaP élaborés.

A-2-2-b. Rugosité

Interférométrie :

La rugosité de surface a été étudiée dans un premier temps grâce à une méthode optique à l'aide d'un microscope interférométrique *S Neox* de la marque Sensofar. Les paramètres de rugosité incluant la hauteur moyenne arithmétique (Sa), la hauteur quadratique moyenne (Sq), la hauteur maximale (Sz), l'asymétrie (Ssk) et l'aplatissement (Sku) du profil 3D, ont été mesurés. Les formules permettant le calcul de ces paramètres sont données dans le Tableau A-1. Pour l'acquisition, le mode interférométrique, la LED verte, une plage de balayage selon l'axe z de 40 µm et l'objectif X10 du microscope permettant d'analyser une surface de 1754 par 1320 µm ont été utilisés. De plus, avant l'acquisition, un ajustement automatique de l'intensité lumineuse ainsi qu'un auto-focus sont réalisés. Une correction concernant la planéité de la surface a été réalisée grâce au logiciel. Cette technique permet principalement d'étudier la rugosité de surface après les différents traitements de surface.

Profilomètrie mécanique :

Cette technique de mesure de la rugosité est basée sur un contact mécanique avec le matériau alors que l'interférométrie est une méthode optique basée sur l'interaction de la surface avec un rayonnement ; pouvant ainsi expliquer une différence dans les résultats obtenus par ces deux types de technique. En effet, le profilomètre est limité par le diamètre de sa pointe alors que la lumière, elle, peut pénétrer plus profondément mais ne peut être utilisée que sur des surfaces permettant de la réfléchir. De plus, contrairement à la technique d'interférométrie présentée précédemment permettant l'analyse d'une surface, le profilomètre permet l'analyse d'une ligne. Lors des essais menés dans l'entreprise, le profilomètre mécanique *SJ 301* (Mitutoyo) nous a permis de réaliser des mesures. Au laboratoire, un profilomètre mécanique *DektakXT* (Brucker) est également disponible et nous a permis principalement de mesurer la rugosité des échantillons revêtus car ces derniers ne réfléchissent pas la lumière et ne permettent donc pas l'utilisation du microscope interférométrique. Tous deux disposent d'une pointe de 2 µm de diamètre. Le profilomètre *SJ 301* permet de mesurer uniquement la hauteur moyenne arithmétique (Ra), la hauteur moyenne quadratique (Rq) et la hauteur maximale (Rz) alors que le *DektakXT* établi ces 3 paramètres ainsi que l'asymétrie (Rsk) et l'aplatissement (Rku) du profil; à l'instar du microscope interférométrique présenté précédemment. Les formules sont également définies dans le Tableau A-1 et des illustrations de ces différents paramètres sont présentées sur la Figure A-1.

Tableau A-1 : Formules des paramètres de rugosité sur un profil de longueur l (2D) et sur une surface d'aire A (3D) [1], [2]

Paramètres de rugosité	Formule sur un profil	Formule sur une surface
Rugosité moyenne arithmétique (Ra/Sa)	$Ra = \frac{1}{l}\int_0^l \lvert Z(x)\rvert dx$	$Ra = \frac{1}{A}\int_0^l \iint_A \lvert Z(x,y)\rvert dxdy$
Rugosité moyenne quadratique (Rq/Sq)	$Rq = \sqrt{\frac{1}{l}\int_0^l Z^2(x)dx}$	$Rq = \sqrt{\frac{1}{A}\iint_A Z^2(x,y)dxdy}$
Hauteur maximale (Rz/Sz)	$Rz = Rp + Rv$ avec $Rp = \max(Z(x))$ et $Rv = \min(Z(x))$	$Sz = Sp + Sv$ avec $Sp = max_A(Z(x,y))$ et $Sv = min_A(Z(x,y))$
Aplatissement (Rku/Sku)	$Rku = \frac{1}{Rq^4}\left(\frac{1}{l}\int_0^l Z^4(x)dx\right)$	$Sku = \frac{1}{Sq^4}\left(\frac{1}{A}\iint_A Z^4(x,y)dxdy\right)$
Asymétrie (Rsk/Ssk)	$Rsk = \frac{1}{Rq^3}\left(\frac{1}{l}\int_0^l Z^3(x)dx\right)$	$Ssk = \frac{1}{Sq^3}\frac{1}{A}\iint_A Z^3(x,y)dxdy$

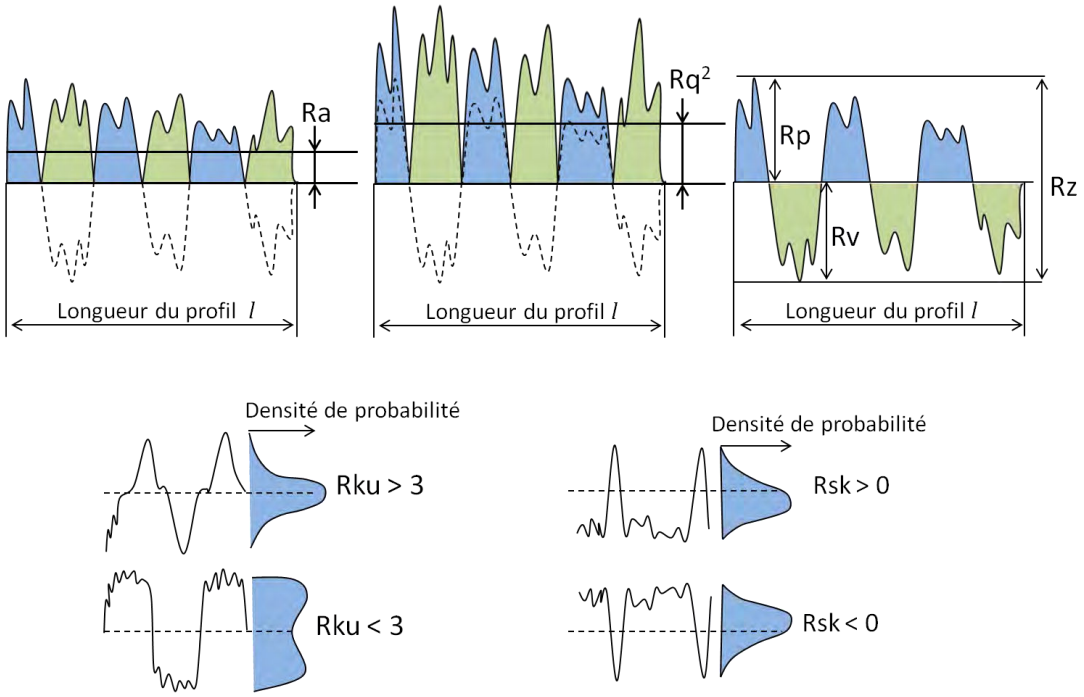


Figure A-1 : Illustrations des différents paramètres de rugosité sur des profils 2D (figures modifiées à partir de [3])

A-2-2-c. Epaisseur des revêtements

Microscopie électronique à balayage

L'épaisseur des revêtements a pu être déterminée par MEB grâce à l'observation d'une coupe transversale. Dans le cas des échantillons préparés par le procédé d'immersions successives, les échantillons sont enrobés et polis comme décrit dans le paragraphe A-2-1.

Dans le cas des échantillons préparés par le procédé d'électrodéposition, l'enrobage n'est pas nécessaire car une zone peut être masquée afin de faire apparaitre une marche entre le dépôt et le substrat.

Calotest

Cette technique consiste à faire tourner une bille (ici de diamètre 1 cm) enduite de pâte diamantée (particule de 1 µm) sur l'échantillon revêtu. Cette bille va abraser le revêtement puis le substrat en créant 2 cercles concentriques (Figure A-2). Il est alors possible de calculer l'épaisseur du revêtement grâce à la formule suivante :

$$epaisseur = \frac{\emptyset_{cercle\ intérieur} * (\emptyset_{cercle\ extérieur} - \emptyset_{cercle\ intérieur})}{\emptyset_{bille}} = \frac{X * Y}{\emptyset_{bille}}$$

Les diamètres de ces deux cercles sont généralement mesurés au microscope optique. Cependant, pour les revêtements les plus fins, une observation MEB a été nécessaire. L'appareil utilisé est un calotest de la société CSEM Instrument.

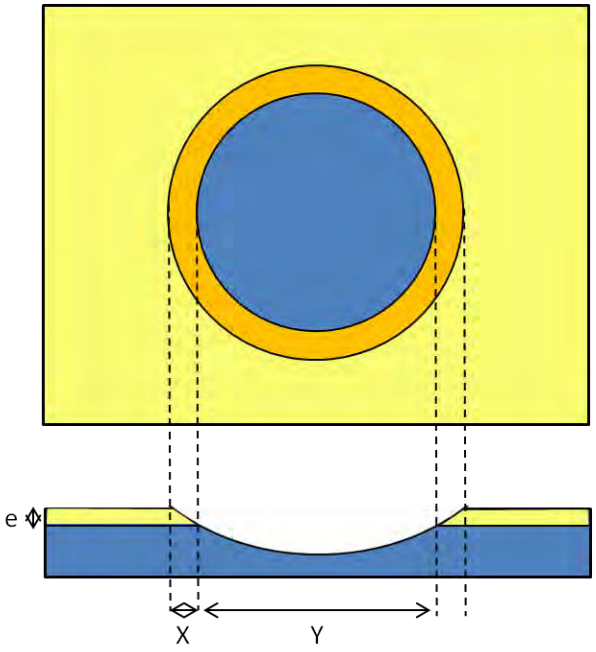


Figure A-2 : Schéma de principe du calotest

Microscopie à force atomique (AFM)

Des revêtements ont été réalisés sur cales polies suivant les étapes de polissage décrites dans le paragraphe A-2-1. Ces revêtements ont pu être réalisés uniquement par électrodéposition car une surface lisse ne permet pas d'obtenir un revêtement par immersions successives ; ce procédé étant très dépendant de la rugosité de surface du substrat. Une marche entre le substrat de titane et le revêtement a été créée grâce au masquage d'une zone du substrat en titane. La hauteur de cette marche a ensuite été mesurée par microscopie à force atomique (AFM). L'appareil utilisé est un microscope *AFM/STM 5500* (Scientec) avec une pointe de silicium ayant une constante de ressort de 25 N/m, un rayon de courbure nominale de 4 nm et balayant une distance de 60 µm. Les mesures ont été effectuées en mode «tapping» avec une fréquence de 300 kHz. A noter que si la marche est supérieure à 3,6 µm, l'appareil sature.

Profilomètrie mécanique

Pour faire suite aux manipulations réalisées par AFM pour lesquelles la mesure d'épaisseur est longue et limitée à 3,6 µm, le profilomètre mécanique *DektakXT* (Brucker) présenté précédemment a également été utilisé. Une pointe d'un diamètre de 2 µm a été utilisée et cette dernière a parcouru une distance de 500 µm permettant de mesurer la marche créée sur les échantillons polis. La planéité de l'échantillon a été réajustée grâce au logiciel.

A-2-3. Caractérisations physico-chimiques des matériaux étudiés

La structure chimique et cristallographique des échantillons revêtus ou non a été analysée dans un premier temps puis les éléments présents dans le revêtement ont été dosés plus précisément.

A-2-3-a. Identification des éléments en présence

Microscopie électronique à balayage

Les images MEB réalisées en mode électrons secondaires obtenues grâce au microscope *LEO 435VP* décrit précédemment nous ont permis de mettre en évidence la présence de particules d'alumine restant enchâssées dans le substrat en titane comme nous le verrons par la suite, et de quantifier le pourcentage de surface du substrat en titane recouvert par ces particules. Pour ce faire, une méthodologie pour l'analyse de ces images a été mise au point en mettant en œuvre le logiciel *ImageJ*. Le protocole est détaillé dans la partie II-2 de ce manuscrit. Aussi, ces images nous ont permis de vérifier l'obtention d'un revêtement couvrant en utilisant le contraste entre les éléments Ca, P et Ti en mode électrons rétrodiffusés.

Spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie (EDX)

Le détecteur EDX *Imix* (PGT), couplé au microscope électronique à balayage *LEO 435VP*, permet de déterminer les éléments présents à la surface de l'échantillon ainsi que leur distribution en réalisant une cartographie élémentaire. Un détecteur au Germanium refroidi à l'azote liquide a été utilisé et une tension d'accélération de 15 KeV, un courant de sonde de 1500 pA et un temps d'acquisition de 100 secondes ont été paramétrés.

Spectroscopies vibrationnelles

Les spectroscopies FTIR et RAMAN permettent, toutes deux, de sonder la ou les liaisons chimiques au sein du matériau étudié. Leur utilisation conjointe est appréciée dans le cadre de cette étude en raison de leur complémentarité. La spectroscopie FTIR, plus rapide à mettre en œuvre a été utilisée de façon routinière alors que la spectroscopie Raman a été nécessaire pour des études plus approfondies. De plus, la spectroscopie Raman possède l'avantage d'étudier précisément une zone d'intérêt grâce au microscope associé.

<u>Spectroscopie d'absorption infrarouge (spectroscopie FTIR)</u>

Les spectres d'absorption infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) ont été réalisés grâce à un spectrophotomètre *FTIR iS50* (Nicolet) dans le moyen infrarouge (MIR) 4000-400 cm^{-1}. Les mesures ont été réalisées dans le mode réfléctance totale atténuée (ATR) en utilisant un cristal en diamant

permettant l'analyse des revêtements de CaP directement sur le substrat. Plusieurs points sur chaque échantillon ont alors été analysés afin de vérifier l'homogénéité de composition du revêtement. Il faut préciser qu'aucune correction liée à l'indice de réfraction du matériau analysé n'a été réalisée sur les spectres à cause de la difficulté de mesurer celui-ci. Les spectres obtenus sur nos échantillons ont alors été directement comparés à ceux obtenus sur des poudres de référence synthétisées au laboratoire des différents CaP d'intérêt (DCPD, OCP, ns-HAP et HAP).

Spectroscopie Raman

Les spectres ont été obtenus grâce au microscope confocal Raman *Labram HR 800, Yvon Jobin* (HORIBA) sur une gamme de 50 à 4000 cm^{-1} en utilisant un laser vert (532 nm), un grandissement optique de 100 et une ouverture à 100 %. Deux configurations ont ensuite été utilisées : la première utilisant un réseau de 600 traits et 3 accumulations de 15 secondes permettant d'effectuer des spectres avec une bonne intensité rapidement afin d'effectuer un balayage sur une série d'échantillon. La deuxième utilise un réseau de 1600 traits conduisant à une perte d'intensité mais à une meilleure résolution du spectre afin de caractériser plus finement les phases en présence. Pour cela, un temps d'acquisition de 60 secondes et 3 accumulations ont été paramétrés.

Diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X nous a permis, d'une part, d'étudier les substrats de titane et, d'autre part, les revêtements de CaP déposés à leur surface.

Deux diffractomètres à rayons X *D8-Advance* (BRUKER) utilisant une anticathode au cuivre (Kα = 1,5419 Å) sous 40 kV et 40 mA ont été utilisés dans deux modes différents.

Dans un premier temps, un diffractomètre a été utilisé en mode dit poudre (θ-2θ), utilisant un détecteur linéaire 1D *LynxEye* et permettant l'analyse des substrats sur la gamme d'angles 5-120 °, un pas de 0,02 ° et un temps de comptage de 0,5 s/pas d'angle.

L'autre diffractomètre a été utilisé en mode incidence rasante avec un angle de 1 ° afin d'analyser la surface des substrats ainsi que les revêtements fins de CaP directement sur les pièces de titane. L'étude des substrats a été réalisée sur une gamme d'angles allant de 20 à 80 ° avec un pas de 0,02 ° et un temps de comptage de 3 secondes alors que celle des revêtements a été effectuée sur une gamme d'angles de 3 à 80° avec un pas de 0,02 ° et un temps de comptage de 2 secondes. Dans ces deux cas, un détecteur linéaire 0D *LynxEye XE-T* ainsi qu'un miroir de Göbel ont été utilisés.

Spectrométrie photoélectronique X (XPS)

L'analyse chimique de l'extrême surface des échantillons a été réalisée par spectrométrie de photoélectrons X (XPS). Cette analyse a été effectuée sur la plateforme PLACAMAT à Bordeaux. Un

l'XPS K-ALPHA (ThermoFisher Scientific) a été utilisé mettant en œuvre une source RX Al monochromatisée ainsi qu'un spot de 200 µm. Une énergie de passage de 200 eV a été paramétrée pour les premiers spectres rapides et de 40 eV pour les spectres hautes résolutions. Aussi, une compensation de charges ions/électrons a été utilisée. Les échantillons sont placés dans la chambre durant une nuit afin d'atteindre l'ultravide. Par la suite, une analyse rapide est réalisée sur tous les échantillons afin de connaitre les éléments présents et donc de prioriser les éléments à analyser de façon plus approfondie. Un spot RX d'un diamètre de 400 µm a été utilisé afin d'obtenir un signal de plus forte intensité et de moyenner au maximum l'analyse. De plus, des décapages ont été réalisés grâce aux ions argon et une tension de 500 eV, cette fois-ci en utilisant un spot RX de diamètre 200 µm. Pour chaque échantillon, 4 points ont été analysés et un point a été décapé ioniquement afin de creuser l'échantillon et de voir l'évolution de la composition chimique dans la profondeur du matériau. Pour ce faire l'appareil est étalonné : la profondeur de décapage est étalonnée sur le SiO_2 est de 0,3 nm/s alors que sur le ZrO_2 elle est de 0,15 nm/sec. Une hypothèse peut alors être formulée permettant de dire que sur les matériaux étudiés, la profondeur de décapage est d'environ 0,2 nm/sec. La séquence de décapage est la suivante : 2 fois 30 secondes puis 3 fois 60 secondes puis 3 fois 120 secondes. Un spectre est réalisé à chaque étape ce qui donne accès à des informations chimiques à environ 0, 6, 12, 24, 36, 48, 72, 96 et 120 nm de la surface de l'échantillon.

A-2-3-b. Dosage des éléments

Spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

Les analyses par spectroscopie d'absorption atomique de flamme (SAA-F) permettant de doser le calcium ainsi que les agents antibactériens (ions) dans les revêtements ont été réalisées avec l'appareil *Contr AA 300* (Analytik Jena). Le gaz utilisé pour le dosage du calcium est un mélange protoxyde d'azote/acétylène alors qu'un mélange air/acétylène est requis pour le cuivre, le zinc et l'argent. Les gammes étalon pour le dosage du calcium, du cuivre, du zinc et de l'argent sont respectivement les suivantes : [0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1, 1,5 ; 2 ; 2,5] ppm ; [0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5] ppm ; [0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5] ppm et [0 ; 0,08 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5 ; 7,5] ppm.

Pour le dosage, les revêtements sont dissous dans 3 mL d'une solution d'acide nitrique (69%) diluée à 0,06 M pendant 30 minutes aux ultrasons. Après prélèvement des 3 mL, l'échantillon est rincé deux fois pour les revêtements obtenus par électrodéposition et seulement une pour ceux obtenus par immersions successives à l'aide de 3 mL d'eau distillée pendant 5 minutes aux ultrasons, ajoutés par la suite aux 3 mL précédents.

De plus, des tests préliminaires présentés en annexe C ont été réalisés afin de définir un protocole optimal pour le dosage de ces éléments. Des modificateurs de matrice, CsCl et $La(NO_3)_3$, ont alors été

rajoutés avec une concentration de 2 g/L aux échantillons préparés pour doser le calcium afin de favoriser le dosage de cet élément et pour s'affranchir des interférences liées à la présence des ions phosphates dans les solutions à doser.

Spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP)

Le phosphore n'étant pas dosable par SAA, l*a spectrométrie à plasma à couplage inductif* (ICP) a été utilisée afin de doser le calcium et le phosphore au sein d'un même échantillon et de calculer le rapport Ca/P correspondant au revêtement. Pour cela, les revêtements sont dissous comme décrit précédemment lors du dosage par SAA et l'appareil *ICP Ultima Expert* ainsi qu'un débit d'argon de 15 L/min sont mis en œuvre. Les échantillons sont ensuite introduits par un nébuliseur *Miramist* (ref 47929024) avec un débit de 1 ml/min. Les gammes étalon pour le dosage du calcium et du phosphore sont respectivement les suivantes : [0 ; 2 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20] et [0 ; 1 ; 4 ; 7 ; 11 ; 15] ppm. Les concentrations en phosphore et calcium présentes dans trois échantillons préparés par chacun des procédés ont été déterminées. Ces mesures ont été effectuées au laboratoire Géosciences Environnement à Toulouse (GET).

Mesure d'angle de goutte

La mouillabilité des échantillons a été évaluée grâce au dispositif *Digidrop* (GBX) permettant la mesure d'angle de contact entre l'échantillon et une goutte d'une solution définie. Avant la mesure, les échantillons suivent le même protocole de lavage à savoir 3 bains : deux d'eau déminéralisée et un d'éthanol ; tous durant 5 minutes aux ultrasons. Puis ils sont séchés à l'étuve à 60 °C pendant 20 minutes. Des gouttes de 3 µL d'eau ultrapure sont déposées et au moins 20 angles sont mesurés pour chaque échantillon. Le test de Dixon (5%) a été appliqué pour rejeter les valeurs aberrantes de la série de mesures.

A-2-4. Caractérisation des propriétés mécaniques des matériaux étudiés

Mesure de la dureté Vickers

Les échantillons de titane ont tout d'abord été enrobés et polis suivant le protocole décrit dans le paragraphe A-2-1. Les mesures de dureté Vickers ont été conduites grâce au duromètre *Omnimet 2100* (BUEHLER). Les indentations ont été réalisées avec une charge de 100 g et un temps de contact de 10 s entre l'indenteur et la surface de l'échantillon. La mesure est considérée valide si la longueur des diagonales mesurées est supérieure à 20 µm et si la différence de longueur des deux diagonales est inférieure à 5% ; en accord avec la norme ISO 6507-2. De plus, chaque indentation est réalisée à au moins trois fois la longueur des diagonales de la précédente ainsi que du bord de l'échantillon.

B. Certificat de fabrication de l'acide par le sous-traitant

	NATURE DOCUMENT QUALITE	SERVICE CREATEUR QUALITE	
	TITRE FICHE DE FABRICATION	DATE : 10/17	INDICE : a
		REFERENCE I 71.01	

56552

MELANGE ACIDE SULFOCHLORHYDRIQUE

HCl : 1 volume
H_2SO_4 : 3 volumes
H_2O : 1 volume

d = 1,588

Pour 10 litres :

- 2,46 kg H_2O
- Ajouter en plusieurs fois 11,04 kg H_2SO_4 à 96 % PA
- Dans un second temps ajouter 2,38 kg HCl à 37 % PA

Attention : forte réaction gazeuse

Figure B-1 : Certificat de fabrication du mélange d'acides fourni par le sous-traitant

C. Mise au point du protocole de dosage du calcium, de l'argent, du cuivre et du zinc par spectrométrie d'absorption atomique

C-1. Principe de l'analyse et problématiques associées

Lors du dosage d'éléments par spectrométrie d'absorption atomique, des « effets de matrice » peuvent se produire traduisant l'influence du milieu analysé sur l'élément dosé. En spectrométrie d'absorption atomique cet « effet de matrice » est la résultante de plusieurs effets provenant des propriétés physiques et chimiques de la solution à doser ainsi que du comportement de ses constituants dans la flamme.

Le processus d'analyse comprend plusieurs actions successives à partir de la solution à analyser qu'il est possible de décliner comme suit [4] :

1) Vaporisation de la solution
2) Evaporation du solvant dans la flamme

$$(M^+ + X^- \leftrightarrow MX)_{(brouillard)} \rightarrow [MX]_{(solide)}$$

3) Fusion puis volatilisation

$$[MX]_{(solide)} \xleftrightarrow{fusion} [MX]_{(liquide)}$$

$$[MX]_{(liquide)} \xleftrightarrow{volatilisation} [MX]_{(vapeur)}$$

4) Atomisation et excitation

$$[MX]_{(vapeur)} \leftrightarrow M^{\circ} + X^{\circ} + M^+ + X^- + \ldots$$

5) Réactions secondaires dans la flamme entre atomes, radicaux et molécules

$$nX^{\circ} + pY^{\circ} \leftrightarrow X_nY_p$$

6) Mesure spectrale des atomes à déterminer

Le dosage résulte d'une mesure comparative de l'absorption des atomes neutres X° obtenus à partir de la solution à doser par rapport à une gamme étalon de cet élément. Le phénomène d'excitation et les réactions secondaires dans la flamme sont défavorables pour le dosage car ils

diminuent le nombre d'atomes à l'état fondamental et donc les possibilités d'absorption d'énergie par l'atome pour passer dans un état excité.

La vaporisation de la solution dépend principalement des propriétés physiques de la solution d'analyse. Ce paramètre varie très peu lors de l'utilisation de solutions peu concentrées et si le même solvant est mis en œuvre pour tous les échantillons et les gammes étalons. Ces conditions correspondent à celle de notre étude utilisant uniquement de l'eau acidifiée comme solvant. L'acidité du milieu peut également jouer un rôle mais tous nos milieux comportent la même acidité.

Un point important lors du dosage effectué dans cette étude et spécifiquement lors du dosage du calcium est la présence d'anions comme les ions phosphates. En effet, l'absorption atomique du calcium diminue en présence d'ions phosphates dans la solution à analyser, ce qui provient de la formation de combinaisons chimiques entre ces deux espèces. Cela peut être corrigé en complexant les ions phosphates avec un autre élément en quantité suffisante pour déplacer l'équilibre afin de libérer les atomes de calcium. Nous utiliserons ici le lanthane ; sous forme de sel de nitrate de lanthane $(LaNO_3)_3$. A noter que les solutions étalons doivent également contenir ce modificateur de matrice.

Un autre problème provient de l'effet de matrice sur l'ionisation. En effet, certains éléments ont des potentiels d'ionisation relativement bas comme le calcium dans notre cas (6,11 eV). Donc, en plus des atomes neutres présents dans la flamme, des atomes sont ionisés. L'équilibre atome neutre/atome ionisé dans la flamme est déplacé par la présence d'électrons libres susceptibles de ramener les atomes ionisés à un état fondamental. Il est alors possible d'ajouter un métal facilement ionisable comme le césium (3,87 eV). Les électrons libres en résultant vont se recombiner avec les ions calcium à doser afin de revenir à l'état fondamental. Une augmentation des atomes neutres sera donc observée.

C-2. Essais réalisés visant une optimisation des dosages

Afin de vérifier cela, des gammes de concentrations connues mettant en œuvre des matrices variées ont été préparées dans le cas du dosage du calcium et des agents antibactériens à savoir l'argent, le cuivre et le zinc. Pour chaque élément, les paramètres de flamme ont préalablement été optimisés et conservés pour toutes les matrices. Dans chaque cas, les absorbances obtenues avec les différentes matrices ont été mesurées. Enfin, ces absorbances ont été comparées pour une même concentration de l'élément.

Pour le cuivre et le zinc, deux matrices ont été testées : une contenant uniquement de l'eau acidifiée avec de l'acide nitrique (HNO_3) à 0,06 M et l'autre composée de cette même solution contenant 2 g/L de CsCl. Pour rappel, le césium contenu dans le CsCl est facilement ionisable et les électrons produits vont permettre de favoriser la formation d'atomes de cuivre ou de zinc à l'état fondamental et donc favoriser son dosage. Les paramètres machine utilisés pour le cuivre et le zinc sont présentés dans le

Tableau C-1. La Figure C-1 montre alors qu'une absorbance plus importante est mesurée pour le dosage du cuivre dans la solution étalon à 5 ppm avec le modificateur de matrice CsCl permettant d'obtenir une absorbance de 0,6689 contre 0,6192 représentant alors un écart d'environ 7 %. Cet écart n'étant pas très élevé et n'étant observé que pour la concentration la plus élevée, l'influence de l'ajout du modificateur de matrice est discutable. Le dosage du zinc, quant à lui, ne montre presque aucune différence avec et sans modificateur (Figure C-2). Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que les potentiels d'ionisation des éléments cuivre et zinc sont assez élevés : 7,73 et 9,39 eV respectivement [5] ; ces derniers sont donc très peu ionisés dans la flamme.

Tableau C-1 : Paramètres utilisés lors du dosage du Cu et Zn par spectrométrie d'absorption atomique

	Débit de gaz (L/h)	Hauteur du bruleur (mm)	Combustible/oxydant	Absorbance mesurée (2 ppm)
Cu	40	12	0,092	0,2535
	Débit de gaz (L/h)	**Hauteur du bruleur (mm)**	**Combustible/oxydant**	**Absorbance mesurée (1 ppm)**
Zn	40	12	0,091	0,1823

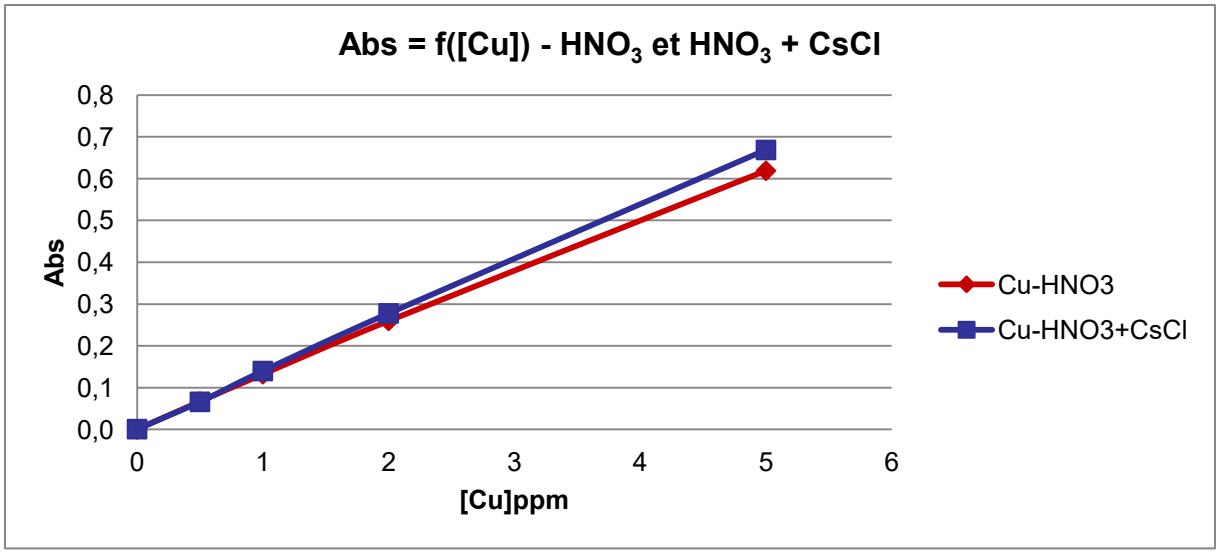


Figure C-1 : Absorbance mesurée pour le dosage du cuivre dans une solution aqueuse uniquement acidifiée (HNO_3 0,06 M) et acidifiée contenant 2 g/L de CsCl

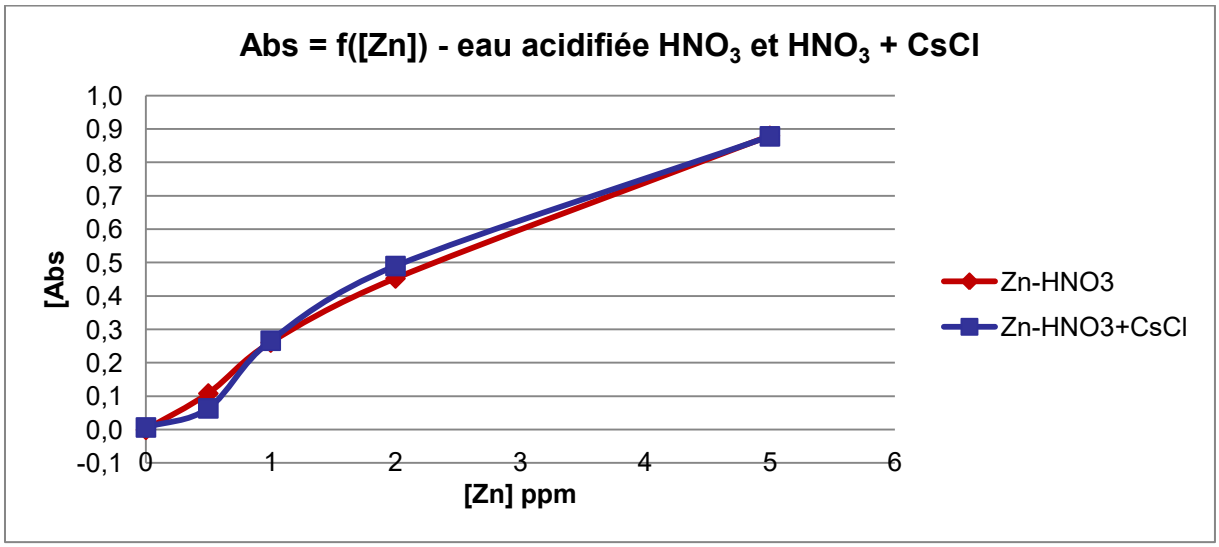


Figure C-2 : Absorbance mesurée pour le dosage du zinc dans une solution aqueuse uniquement acidifiée (HNO_3 0,06 M) et acidifiée contenant 2 g/L de CsCl

Pour l'argent, deux matrices ont été testées à savoir une solution aqueuse acidifiée avec de l'acide nitrique et une avec de l'acide phosphorique afin de voir une possible influence de la présence des ions phosphates lors du dosage de l'argent. Le Tableau C-2 indique les paramètres sélectionnés pour l'étude et la Figure C-3 montre qu'aucune différence importante en terme d'absorbance n'est observable lors de l'utilisation de ces deux acides. Il est alors possible de conclure que la présence d'ions phosphate dans la solution ne semble pas interférer sur le dosage de l'argent. Le CsCl ne peut pas être utilisé dans ce cas car l'ion chlorure précipiterait avec l'argent, ce qui ne permettrait donc pas de doser ce dernier.

Tableau C-2 : Paramètres utilisés lors du dosage de l'Ag par spectrométrie d'absorption atomique

Débit de gaz (L/h)	Hauteur du bruleur (mm)	Combustible/oxydant	Absorbance mesurée (2 ppm)
40	10	0,092	0,15

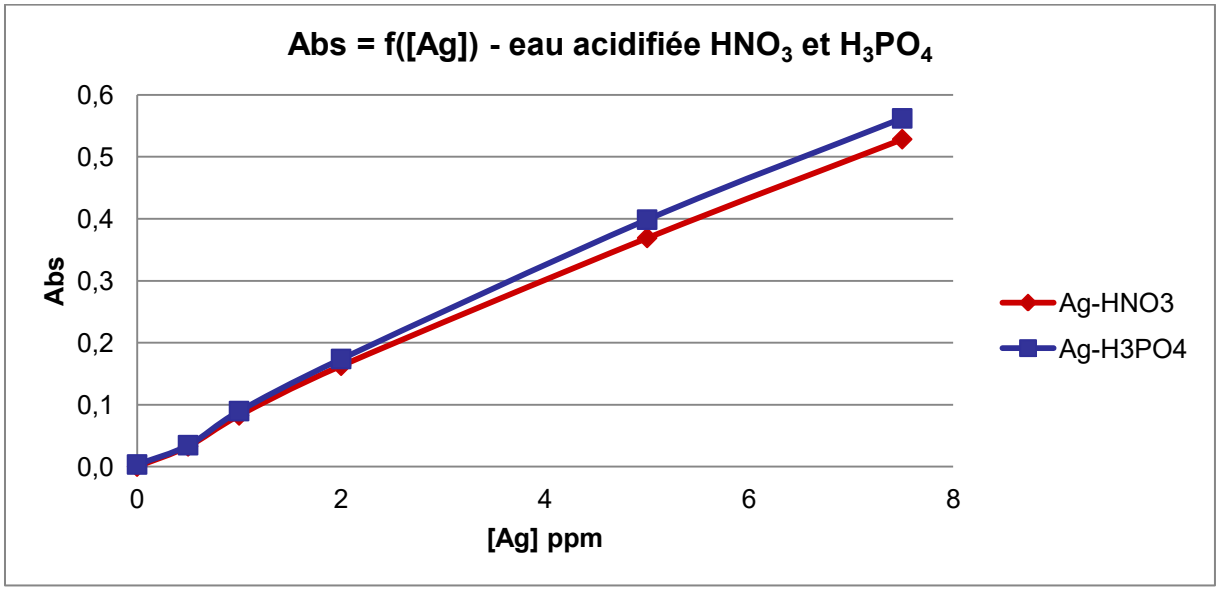


Figure C-3 : Absorbance mesurée pour le dosage de l'argent dans une solution aqueuse acidifiée avec de l'HNO_3 ou avec de l'H_3PO_4

Enfin pour le calcium, un essai préliminaire a été mené avec une solution d'eau seule, d'eau acidifiée avec HNO_3 0,06 M, d'eau acidifiée HNO_3 0,06 M contenant 2 g/L de CsCl et d'eau acidifiée HNO_3 0,06 M contenant 2 g/L de $La(NO_3)_3$. Les paramètres utilisés pour cette étude sont résumés dans le Tableau C-3. Il est alors possible d'observer que l'ajout des modificateurs de matrice, que ce soit le césium ou le lanthane mènent à des absorbance plus élevées : environ 0,2805 avec modificateur de matrice contre 0,1983 sans, représentant alors une différence d'environ 30 %. Alors qu'une augmentation de l'absorbance était attendue avec l'ajout du CsCl, l'ajout de lanthane en absence de phosphates ne devrait pas permettre d'augmenter également la valeur de l'absorbance. Il faut cependant noter que son potentiel d'ionisation (5,58 eV [5]) est certes plus élevé que celui du césium (3,87 eV) mais plus faible que celui du calcium (6,11 eV) et peut donc, à l'instar du césium, favoriser la présence d'atome de calcium à l'état fondamental.

Tableau C-3 : Paramètres utilisés lors du dosage du Ca par spectrométrie d'absorption atomique

Débit de gaz (L/h)	Hauteur du bruleur (mm)	Combustible/oxydant	Absorbance mesurée (1,5 ppm)
185	9	0,549	0,1342

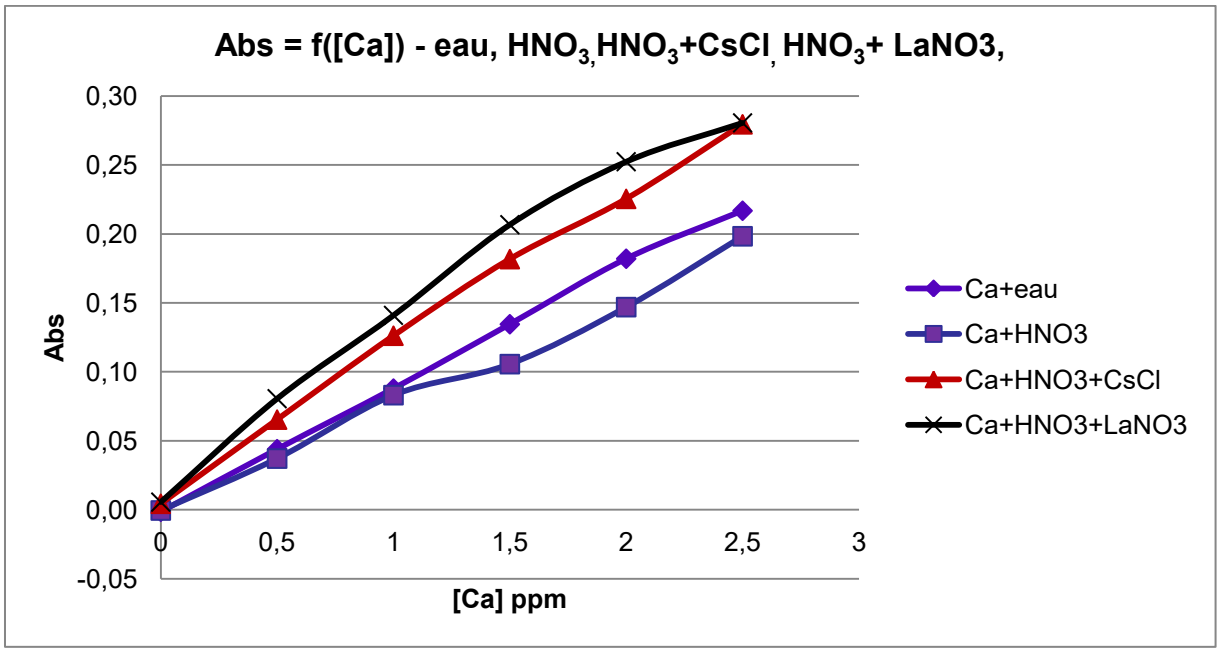


Figure C-4 : Absorbance mesurée pour le dosage du calcium dans de l'eau, de l'eau acidifiée avec de l'HNO_3, de l'eau acidifiée avec de l'HNO_3 avec 2 g/L de CsCl et de l'eau acidifiée avec de l'HNO_3 avec 2 g/L de $La(NO_3)_3$

Afin de simuler la présence de phosphates lors du dosage du calcium, une solution est préparée en dissolvant 100 mg d'hydroxyapatite et en diluant celle-ci avec différentes matrices afin d'obtenir 2 concentrations incluses dans la gamme du dosage du calcium (0,5 – 2,5 ppm). Les solutions testées sont : une solution d'acide nitrique de 0,06 M seule, avec ajout de CsCl à 2 g/L, avec ajout de $La(NO_3)_3$ à 2 g/L, avec ajout de CsCl et de $La(NO_3)_3$ tous deux à une concentration de 2 g/L. Les paramètres mis en œuvre après optimisation sont présentés dans le Tableau C-4. Une fois encore, il est possible d'observer que l'ajout des modificateurs de matrice favorise le dosage du calcium car une valeur d'absorbance plus élevée est mesurée (Figure C-5). Celle-ci est d'autant plus élevée lors de l'utilisation combinée de ces deux modificateurs de matrice.

Tableau C-4 : Paramètres utilisés lors du dosage du Ca par spectrométrie d'absorption atomique

Débit de gaz (L/h)	Hauteur du bruleur (mm)	Combustible/oxydant	Absorbance mesurée (1,5 ppm)
195	10	0,579	0,121

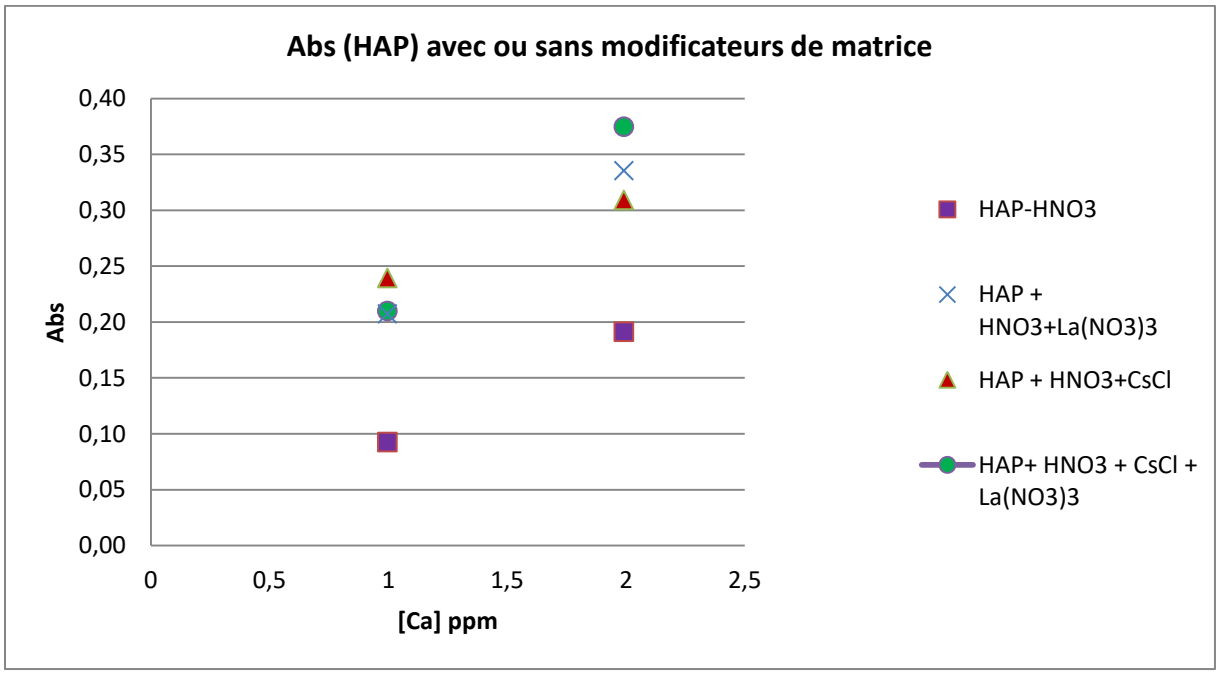


Figure C-5 : Absorbance mesurée pour le dosage du calcium dans l'hydroxyapatite dissoute dans de l'eau acidifiée avec de l'HNO_3, de l'eau acidifiée avec de l'HNO_3 avec 2 g/L de CsCl, de l'eau acidifiée avec de l'HNO_3 avec 2 g/L de $La(NO_3)_3$ et de l'eau acidifiée avec de l'HNO_3 contenant 2 g/L de CsCl et 2 g/L de $La(NO_3)_3$

Pour conclure, il a été possible de voir que la présence d'ions phosphates dans la solution à doser ne présente pas d'interférence lors du dosage de l'argent. Dans le cas du cuivre et du zinc, l'ajout de CsCl ne semble pas modifier la valeur de l'absorbance obtenue donc son utilisation n'est pas utile. Par conséquent, une solution aqueuse acidifiée par de l'acide nitrique à 0,06 M sera utilisée lors du dosage des ions antibactériens (argent, cuivre et zinc). Le dosage du calcium, même lorsqu'il est seul, est favorisé par l'ajout des modificateurs de matrice à base de césium et/ou de lanthane. En présence d'ions phosphates, cette même tendance est observée et elle est plus marquée lorsque les deux modificateurs de matrice sont mis en œuvre conjointement dans la solution à doser. C'est la raison pour laquelle une solution d'eau acidifiée avec de l'acide nitrique à 0,06 M et contenant 2 g/L de chlorure de césium et 2 g/L de nitrate de lanthane sera utilisée lors du dosage du calcium.

Références bibliographiques pour la partie Annexe :

[1] Keyence Corporation, « Area Roughness Parameters - surface texture parameters in ISO 25178 », 29-nov-2017. [En ligne]. Disponible sur: https://www.keyence.com/ss/products/microscope/roughness/surface/parameters.jsp. [Consulté le: 29-nov-2017].

[2] E. S. Gadelmawla, M. M. Koura, T. M. A. Maksoud, I. M. Elewa, et H. H. Soliman, « Roughness parameters », *J. Mater. Process. Technol.*, vol. 123, n° 1, p. 133-145, 2002.

[3] « Roughness (2D) parameter | Olympus IMS », 08-juin-2017. [En ligne]. Disponible sur: http://www.olympus-ims.com/en/knowledge/metrology/roughness/2d_parameter/. [Consulté le: 08-juin-2017].

[4] M. Pinta et C. Riandey, « Dosage des éléments à l'état de traces dans les roches et les autres substances minérales naturelles », *Colloques Nationaux du Centre National de la Recherche Scientifique*, vol. 923, p. 237-249, 1968.

[5] « Eléménts chimiques classés par énergie d'ionisation ». [En ligne]. Disponible sur: https://www.lenntech.fr/francais/data-perio/energie-ionisation.htm. [Consulté le: 11-août-2018].

Production scientifique

Liste des publications internationales dans des revues à comité de lecture

Camille Pierre, Ghislaine Bertrand, Christian Rey, Olivier Benhamou, Christèle Combes *;* "Calcium phosphate coatings elaborated by the soaking process on titanium dental implants: surface preparation, processing and physical-chemical characterization*"*; *Dental Materials (2018),* https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.10.005

Elia Vidal, Judit Buxadera-Palomero, Camille Pierre, José M. Manero, Maria-Pau Ginebra, Sophie Cazalbou, Christèle Combes, Elisa Rupérez, Daniel Rodríguez; "Single-step pulsed electrodeposition of calcium phosphate coatings on titanium for drug delivery"; *Surface & Coatings Technology Science (2018),* https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.11.037

Présentations orales à des conférences et manifestations scientifiques

Elaboration, caractérisation et étude des propriétés d'un revêtement bioactif à la surface d'implants dentaires
C. PIERRE, G. BERTRAND, C. COMBES
Journée des doctorants du CIRIMAT, 05/01/2017, Toulouse

Calcium phosphate coatings elaborated by electrodeposition on titanium implants
C. PIERRE, G. BERTRAND, C. REY, C. COMBES
BIOMAT 2017 – SF2M, 12-16/06/2017, Ambleteuse

Electrodeposition strategies for antibacterial calcium phosphate coatings on titanium
C. PIERRE, E. VIDAL, C. COMBES, G. BERTRAND, D. RODRIGUEZ, E. RUPEREZ, C. REY
1st Transpyrenean Encounter on Advanced Materials 2017, 04-06/07/2017, Sète

Low-temperature calcium phosphate coatings on dental implants elaborated by soaking process
C. PIERRE, G. BERTRAND, C. REY, C. ROQUES, C. COMBES
Bioceramics 29, 25-27/10/2017, Toulouse

Elaboration et caractérisation d'un revêtement de phosphate de calcium à propriétés antibactériennes élaboré par électrodéposition à la surface d'implants dentaires
C. PIERRE, G. BERTRAND, C. COMBES
Journée des doctorants du CIRIMAT, 05/06/2018, Toulouse

Revêtements de phosphate de calcium élaborés par électrodéposition à la surface d'implants dentaires et présentant des propriétés antibactériennes
C. PIERRE, I. PAVY, C. COMBES, C. REY, G. BERTRAND, C. ROQUES
Symposium « Matériaux antimicrobiens », 19/09/2018, Reims

Vulgarisation scientifique

Co-organisation de l'évènement *« Pint of Science »,* Edition 2017 à Toulouse

Finaliste régional de *« Ma thèse en 180 secondes »,* Edition 2018
https://www.youtube.com/watch?v=YIjmk7Z5wU4&t=6s

Prix

Prix de la meilleure présentation orale à Bioceramics 29, Octobre 2017, Toulouse

Prix « Coup de cœur du jury » à la finale régionale de « Ma thèse en 180 secondes », Edition 2018

Résumé

De nombreux traitements de surface (sablage, attaques acides…) ont été mis au point sur les implants dentaires afin de favoriser leur ostéointégration. Par ailleurs, depuis plusieurs années des revêtements à base de phosphates de calcium sont également développés dans le même but.

L'objectif principal de la thèse est de mettre au point un procédé de revêtement à basse température afin de déposer à la surface de l'implant en titane une couche mince de phosphate de calcium, de structure et de composition analogue au minéral osseux en vue de favoriser l'ostéointégration. Il est aussi souhaité que ce revêtement présente des propriétés antibactériennes afin de lutter contre les infections post-opératoires.

Dans un premier temps, un traitement de surface de l'implant en titane composé d'une étape de sablage et d'une attaque acide a été développé. Il permet d'obtenir une rugosité moyenne de surface comprise entre 1,4 et 1,8 µm ainsi qu'une texture microporeuse et une mouillabilité de surface améliorée. Puis, les procédés de revêtement d'électrodéposition et d'immersions successives ont été étudiés. L'étape de centrifugation implémentée dans le procédé d'immersions successives s'est révélée cruciale et un revêtement d'environ 2 µm d'épaisseur composé d'apatite biomimétique a été obtenu. La composition et l'épaisseur du revêtement élaboré par électrodéposition est fortement influencée par la durée du dépôt. Ainsi une durée d'électrodéposition de 1 min menée à un potentiel de -1,6 V/ECS permet d'obtenir un revêtement d'environ 1,5 µm d'épaisseur composé d'une couche de phosphate octocalcique et de cristaux de brushite. Un test de vissage/dévissage dans une mâchoire artificielle a démontré la tenue mécanique des revêtements obtenus selon les deux procédés. Enfin, des ions antibactériens tels que l'argent, le cuivre ou le zinc ont été incorporés aux revêtements. Il a été démontré que des taux importants d'incorporation allant jusqu'à 40 % molaire par rapport au calcium peuvent être atteints pour le cuivre et le zinc. Des tests biologiques permettant d'évaluer l'effet de ces revêtements sur l'activité biologique de cellules mésenchymateuses humaines ainsi que sur la formation d'un biofilm (modèle de péri-implantite) en vue de la prévention des infections post-opératoires ont conduit à des résultats prometteurs pour le développement de tels revêtements bioactifs.

Ces travaux de thèse s'inscrivent dans le cadre du projet BIOACTISURF, soutenu par la Région Midi-Pyrénées, et réalisé en collaboration avec le Laboratoire de Génie Chimique (LGC) ainsi qu'un partenaire industriel.

Mots clés : Implants dentaires, Revêtement bioactif, Phosphate de calcium, Traitements de surface, Electrodéposition, Antibactérien.

Abstract

Numerous surface treatments have been developed in order to improve osseointegration of dental implants (sandblasting, acid etching…). Moreover, various strategies involving calcium phosphate coatings have emerged for the same target for a few decades.

The main purpose of this work is to develop a low temperature process allowing the deposition of a thin calcium phosphate layer at the titanium implant surface. The composition and structure of this calcium phosphate coating have to be close to the bone mineral to enable osseointegration improvement. Moreover, the coating should have antibacterial properties in order to prevent post-operative infections.

A surface treatment protocol composed of sandblasting and acid etching was firstly developed creating an average roughness of 1.4 – 1.8 µm with micropits and improved wettability. Secondly, two processes were studied to produce the calcium phosphate coating: the alternate soaking process and the electrodeposition. It was demonstrated that the centrifugation step implemented in the alternate soaking process is crucial and a coating of about 2 µm thick composed of biomimetic apatite was obtained. Among all the operating parameters of the electrodeposition process, time of electrodeposition has the major impact on the composition and the thickness of the coating. An electrodeposition of 1 min at -1.6 V/SCE leads to a 1.5 µm thick coating composed of a layer of octacalcium phosphate and dicalcium phosphate dihydrate crystals. A screw/unscrew test demonstrated the mechanical stability of the coatings obtained by both processes. Finally, antibacterial ions such as silver, copper and zinc were incorporated in the coatings. High incorporation rate up to 40 mol.% compared to calcium were determined for copper and zinc. Biological tests were conducted to qualify the effect of these coatings on the biological activity of human mesenchymal cells and on the formation of a biofilm (peri-implantitis model) to prevent post-operative infections. They led to promising results for the development of such bioactive coatings.

This work is part of the BIOACTISURF project, supported by the Midi-Pyrénées Region, and carried out in collaboration with the Laboratory of Chemical Engineering (LGC) and an industrial partner.

Keywords: Dental implants, Bioactive coating, Calcium phosphate, Surface treatments, Electrodeposition, Antibacterial.